

ZUR KENNTNIS DER C,H- UND C,C-KERNSPIN-KOPPLUNGSKONSTANTEN

- I. $^1J(C_\alpha, H)$ in Aminosäuren und Peptiden
II. Berechnung von $^1J(C, C)$ -Kopplungskonstanten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung
der Philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der
Philosophischen Fakultät II
der Universität Zürich

von
HULDRYCH EGLI
von Fischenthal ZH

1981

Begutachtet von Herrn Prof. Dr. W. von Philipsborn

Zürich 1980
Zentralstelle der Studentenschaft

ZUR KENNTNIS DER C,H- UND C,C-KERNSPIN-KOPPLUNGSKONSTANTEN

- I. $^1J(C_{\alpha}, H)$ in Aminosäuren und Peptiden
- II. Berechnung von $^1J(C, C)$ -Kopplungskonstanten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung
der Philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der
Philosophischen Fakultät II
der Universität Zürich

von
HULDRYCH EGLI
von Fischenthal ZH

Begutachtet von Herrn Prof. Dr. W. von Philipsborn

Zürich 1980
Zentralstelle der Studentenschaft





Für meine Familie



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Meinem verehrten Lehrer,

Herrn Prof. Dr. W. von Philipsborn

danke ich für seine stete Diskussionsbereitschaft. Besonders geschätzt habe ich seinen Blick für das Wesentliche und seine freundliche, wohlwollende Haltung mir und meiner Arbeit gegenüber.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	9
I. Theorie der Kopplungskonstanten	11
1. Berechnung der Kopplungskonstanten	11
2. Empirische Beziehungen	19
2.1. Ueberblick	19
2.2. Konstitutionelle Effekte auf ^1J -Kopplungskonstanten	20
2.3. Konformationseffekte	28
II. Messtechniken	37
1. $^1\text{J}(\text{C}, \text{H})$ -Kopplungen	37
1.1. Elimination der "long-range" Kopplungen	38
1.2. Protonengekoppelte ^{13}C -Spektren mit NOE	40
1.3. CW-off-resonance Spektren mit NOE	43
2. $^1\text{J}(\text{C}, \text{C})$ -Kopplungskonstanten	43
2.1. Natürlicher ^{13}C -Gehalt	44
2.2. Messung hochgradig ^{13}C -isotopenmarkierter Verbindungen	44
III. Untersuchungen der $^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$ -Kopplungskonstanten in Peptiden	47
1. Spektrenanalyse	48
1.1. Protonengekoppelte ^{13}C -Spektren	49
2. Lösungsmittelabhängigkeit von $^1\text{J}(\text{C}, \text{H})$ -Kopplungen	55
3. Isotopieeffekte beim Wechsel von H_2O auf D_2O	57
3.1. Der pD-Wert von D_2O -Lösungen	57
3.2. Der Isotopieeffekt auf K_s in D_2O	59
4. Temperatureffekte	65
4.1. Direkte Temperatureffekte	65
4.2. Indirekte Temperatureffekte	66
5. Der Einfluss paramagnetischer Ionen auf NMR Titrationsexperimente	71

6.	Die Bestimmung der Säurekonstanten K_s mit NMR	73
6.1.	Einfache Säure-Base Gleichgewichte	74
6.2.	Mehrprotonige Säuren	74
7.	Titrationsexperimente an Aminosäuren und Oligopeptiden	77
7.1.	Protonierungsshifts $\Delta\delta(^{13}\text{C})$ und $\Delta^1J(\text{C}\alpha, \text{H})$	83
7.2.	Chemische Verschiebungen und Kopplungskonstanten	92
7.3.	Ermittlung von Malinowski-Inkrementen ζ für $^1J(\text{C}\alpha, \text{H})$ in Peptiden	98
8.	Konformationsabhängigkeit von $^1J(\text{C}\alpha, \text{H})$	103
8.1.	Offenkettige Peptide	103
8.2.	Diketopiperazine	105
8.3.	Tetrapeptide	112
8.4.	Ermittlung der Funktion $^1J(\Phi', \Psi')$	117
8.5.	Bestätigung der Beziehung für $^1J(\Phi', \Psi')$	120
IV.	$^1J(\text{C}, \text{C})$ -Kopplungskonstanten	140
1.	Berechnung von $^1J(\text{C}, \text{C})$ -Kopplungskonstanten als Produkt zweier empirischer strukturbezogener Faktoren	140
1.1.	$^1J(\text{C}, \text{C})$ -Kopplungskonstanten in Cycloalkanen	146
2.	Anwendungen	148
V.	Experimenteller Teil	153
	Anhang	156

ZUSAMMENFASSUNG

=====

$^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten in Aminosäuren und Peptiden

Anhand von $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten in Aminosäuren und Peptiden wurde festgestellt, dass sich die Kopplungskonstante in einen konstanten konstitutionellen und in einen variablen konformationellen Anteil separieren lässt. Der konstitutionelle Anteil A umfasst die Einflüsse einer gegebenen Konstitution der Molekel auf $^1J(C\alpha, H)$. Die konstante Grösse A lässt sich mit Hilfe der Beziehung (79) abschätzen.

Der konformationelle Anteil zu $^1J(C\alpha, H)$ ist abhängig von der Orientierung der $C\alpha, H$ -Bindung bezüglich des p_z -Orbitals am benachbarten Amidstickstoff und bezüglich des π -Systems der CO-Gruppe.

Die Untersuchungen führten zu neuen Beziehungen, welche die Voraussage resp. die Interpretation der $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten in Aminosäuren und Peptiden für verschiedene Lösungsmittel und für verschiedene pD-Werte (in D_2O) erlauben.

1) Es wurden Malinowski-Inkrementen ζ bestimmt, welche die Substituenteneinflüsse an $C\alpha$ auf die Kopplungskonstante berücksichtigen. Ionische Substituenten (z.B. COO^- und NH_3^+) und die Peptidfragmente CON- resp. NCO- wurden in die Betrachtungen miteinbezogen.

2) Anhand von $^1J(C\alpha, H)$ Messwerten der starren Moleküle $cyclo(Gly-L-Pro)$ und $cyclo(Gly-L-Pro)_2$ wurde eine Gleichung entwickelt, welche die Konformationsabhängigkeit der $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten als Funktion von Φ und Ψ in einer Reihe cyclischer Oligopeptide sehr gut beschreibt. (Gleichung (77)).

$^1J(C, C)$ -Kopplungskonstanten

Aus experimentellen $^1J(C, C)$ -Kopplungskonstanten wurden empirische Faktoren $I(C)$ für eine Vielfalt von Strukturfragmenten ermittelt. Das Produkt zweier strukturbezogener $I(C)$ -Werte reproduziert die $^1J(C, C)$ -Kopplungskonstanten für beliebige Kombinationen von C-gebundenen Molekülfragmenten. Es wurde ebenfalls festgestellt, dass sich die $I(C)$ -Werte aus $^1J(C, H)$ -Kopplungskonstanten analoger C, H-Fragmente oder aus Malinowski-Inkrementen berechnen lassen.

Die zu erwartende weitere Steigerung der Empfindlichkeit moderner FT-NMR Spektrometer wird in der Zukunft vermehrt dazu führen, dass biosynthetische Studien aufgrund von ^{13}C -Isotopenmarkierungen durchgeführt werden. Bei der Signalzuordnung in ^{13}C -NMR Spektren via die $^1J(C, C)$ -Kopplungskonstante wird die beschriebene Methode gute Dienste leisten. (vgl. I.2. und IV.2.)

I. Theorie der Kopplungskonstanten

1. Berechnung der Kopplungskonstanten ^{1,2}

Die Elektronen im Raum um zwei koppelnde magnetische Kerne dienen als Uebertragungsmedium für die indirekte Spin-Spin-Kopplung. Die magnetischen Kerne (Spinquantenzahl I_N und $I_{N'}$) treten zusätzlich mit der Orbitalbewegung der Elektronen (Bahndrehimpulsquantenzahl L) und mit dem Elektronenspin (Spinquantenzahl S) in Wechselwirkung.

Die Energien der Spin-Spin Wechselwirkungen sind sehr klein im Vergleich zu den MO-Energien. Demzufolge lassen sich die Spin-Spin Wechselwirkungen mit einer Störungsrechnung behandeln.

1.1. Der Hamiltonoperator

Der Störungsoperator H' wird als Summe von Hamilton-Operatoren ausgedrückt. Die einzelnen Terme widerspiegeln die verschiedenen möglichen Wechselwirkungen.³

$$(1) \quad \hat{H}' = \hat{H}^{1a} + \hat{H}^{1b} + \hat{H}^2 + \hat{H}^3$$

$\hat{H}^{1a}, \hat{H}^{1b}$: Beschreiben die Wechselwirkung zwischen dem Kernmoment und der Orbitalbewegung der Elektronen.

$\hat{H}^2$: Beschreibt die Dipol-Dipol Wechselwirkung zwischen den Kern- und Elektronenspins.

$\hat{H}^3$: Durch $\hat{H}^3$ wird der dominierende Beitrag zur Spin-Spin-Kopplung beschrieben: Die Wechselwirkung zwischen den Kernen N, N' und der Spindichte am jeweiligen Kernort. Dieser Term wird Fermi-Kontakt-term genannt.

1.2. Die Störungsrechnung

1.2.1. Allgemeines Verfahren

Unter der Annahme, dass die Schrödingergleichung für ein bestimmtes Problem gelöst sei, kann eine vergleichsweise kleine zusätzliche Wechselwirkung als Störung zum gelösten Problem aufgefasst werden.

Die Störenergie wird durch einen Störoperator $\hat{H}'$ und die gestörte Funktion als eine Reihe von Linearkombinationen aus ψ_n^0 ausgedrückt.

$$\begin{aligned}\hat{H}_0 & \text{ geht über in } \hat{H}_0 + \hat{H}' \\ \psi_n^0 & \text{ geht über in } \psi_n^0 + \lambda \psi_n^1 = \psi_n^0 + \psi_n^1 + \psi_n^2 + \dots\end{aligned}$$

Um die Wirkung einer Störung auf die Lösung der Schrödingergleichung verständlich zu machen, kann ein "Einschaltparameter λ mit der Eigenschaft $0 \geq \lambda \geq 1$ definiert werden. λ gibt an wie stark die Störung auf das ursprüngliche ungestörte System einwirkt. Für $\lambda = 0$ geht die Störungsrechnung in die Lösung des ungestörten Systems über. Für $\lambda = 1$ liegt das voll gestörte System vor. Der Ansatz für ein gestörtes System ist unten skizziert.

$$(\hat{H}_0 + \hat{H}') (\psi_n^0 + \lambda \psi_n^1 + \lambda^2 \psi_n^2 + \dots)$$

Der Exponent zu λ gibt die Ordnung der Störungsrechnung an. Für $\lambda = 1$, d.h. für die volle Störung erhält man folgende Gleichungen.

$$\begin{aligned}(2) \quad \text{Ungestörtes System : } & \hat{H}_0 \psi_n^0 = E_n^0 \psi_n^0 \\ (3) \quad \text{Störterm 1. Ordnung: } & \hat{H}_0 \psi_n^1 + \hat{H}' \psi_n^0 = E_n^0 \psi_n^1 + E_n^1 \psi_n^0 \\ (4) \quad \text{Störterm 2. Ordnung: } & \hat{H}_0 \psi_n^2 + \hat{H}' \psi_n^1 = E_n^0 \psi_n^2 + E_n^1 \psi_n^1 + E_n^2 \psi_n^0\end{aligned}$$

Der Erwartungswert der Störenergie wird erhalten, wenn $\hat{H}'$ auf die ungestörte MO-Wellenfunktion angewendet wird.

$$(5) \quad 1. \text{ Ordnung: } E_n^1 = \langle \psi_n^0 | \hat{H}' | \psi_n^0 \rangle$$

$$(6) \quad 2. \text{ Ordnung: } E_n^2 = \sum_{j \neq n} \frac{\langle \psi_j^0 | \hat{H}' | \psi_n^0 \rangle \langle \psi_n^0 | \hat{H}' | \psi_j^0 \rangle}{E_n^0 - E_j}$$

1.2.2. Anwendung auf Spin-Spin Wechselwirkung

Der Spin-Hamiltonoperator, welcher die Wechselwirkung koppeln-der Kerne beschreibt, enthält das Produkt der Spinoperatoren beider Kerne. (Gleichung (7))

$$(7) \quad \hat{H} = J_{NN'} \hat{I}_N \cdot \hat{I}_{N'}$$

Die phänomenologische Wechselwirkungsenergie wird durch Gleichung (8) ausgedrückt.

$$(8) \quad E_{NN'} = h J_{NN'} I_N I_{N'}$$

Die Störungsrechnung muss Wechselwirkungsterme liefern, welche den Spin-Hamiltonoperator reproduzieren. Dieser Störoperator, in welchem $J_{NN'}$ nicht mehr eine phänomenologische Grösse ist, muss bilinear in den Spinoperatoren $\hat{I}_N$ und $\hat{I}_{N'}$ sein.

Im Störoperator $\hat{H}'$ besitzt $\hat{H}^{1a}$ eine Form, welche erlaubt, die Störenergie nach 1. Ordnung zu ermitteln. Für die Terme $\hat{H}^{1b}$, $\hat{H}^2$ und $\hat{H}^3$ muss eine Störungsrechnung 2. Ordnung durchgeführt werden. In den Gleichungen (9-12) sind die Hamiltonoperatoren des Störungsterms explizit dargestellt.

β ist das Bohrmagneton. $\hbar$ ist die Planckkonstante $h/2\pi$. r_{kN} ist der Abstandsvektor, welcher den Abstand vom Elektron k zum Kern N beschreibt. γ_N ist der gyromagnetische Faktor des Kerns N .

$$(9) \quad \hat{H}^{1a} = \frac{e\hbar}{c} \beta \cdot \sum_{N,N'} \gamma_N \gamma_{N'} \sum_K r_{KN}^{-3} r_{KN'}^{-3}$$

$$+ [\hat{L}_N \cdot \hat{L}_{N'}, \hat{L}_N \cdot \hat{L}_{N'}] = [\hat{L}_N \cdot \hat{L}_{N'}, \hat{L}_N \cdot \hat{L}_{N'}]$$

$$(10) \quad \hat{H}^{1b} = \frac{2\beta\hbar}{c} \sum_N \gamma_N \hat{I}_N \sum_K r_{KN}^{-3} (\mathbf{r}_{KN} \times \nabla_K)$$

$$(11) \quad \hat{H}^2 = 2\beta\hbar \sum_N \gamma_N \sum_K [3(\hat{S}_K \cdot \mathbf{r}_{KN}) \cdot (\hat{I}_N \cdot \mathbf{r}_{KN}) r_{KN}^{-5} - (\hat{S}_K \cdot \hat{I}_N) r_{KN}^{-3}]$$

$$(12) \quad \hat{H}^3 = \frac{16\pi\beta\hbar}{3} \sum_N \gamma_N \sum_K \delta(\mathbf{r}_{KN}) \hat{S}_K \cdot \hat{I}_N$$

$\hat{H}^{1a}$ besitzt nach Anwendung einer Störungsrechnung 1. Ordnung die Form des Spin-Hamiltonoperators. In den Rechnungen wird dieser Term vernachlässigt. Die übrigen Terme führen zu der gewünschten Form des Spin-Hamiltonoperators, wenn eine Störungsrechnung 2. Ordnung durchgeführt wird. Gleichung (13) zeigt das Resultat einer solchen Störungsrechnung für $H = \hat{H}^{1b} + \hat{H}^2 + \hat{H}^3$. (vgl. mit (6)).

$$(13) \quad E_{NN'} = k \sum_N \langle 0 | \hat{A}_N \hat{I}_N | n \rangle \langle n | \hat{B}_N \cdot \hat{I}_N | 0 \rangle (E_0 - E_n)^{-1}$$

k ist eine Konstante. Die Vektoroperatoren $\hat{A}_N$ und $\hat{B}_N$ hängen von den Elektronenkoordinaten, Drehimpulsen und Spins ab. Es wird über alle angeregten Zustände $|n\rangle$ des Moleküls und die zugehörigen E_n summiert. Die Symbole $|0\rangle$ und E_0 beziehen sich auf den Grundzustand der Wellenfunktion Ψ_0^0 und die Energie des Grundzustandes. Die Umformung von Gleichung (13) in (14) zeigt die Verwandtschaft mit der phänomenologischen Beziehung (8).

$$(14) \quad E_{NN'} = h I_N J_{NN'} \hat{I}_N$$

Gleichung (14) ist die korrekte Form für die elektronengekoppelte Spin-Spin Wechselwirkung in anisotropen Flüssigkeiten (z.B. nematischer Phase).

In frei beweglichen Molekülen mittelt sich die Anisotropie aus. Der ausgemittelte Kopplungstensor $\bar{J}_{NN'}$ ist in (15) gegeben.

$$(15) \quad \bar{J}_{NN'} = 1/3 (J_{xx} + J_{yy} + J_{zz})$$

Mit (15) werden (14) und (8) identisch.

Die Umwandlung der Energie in die aus dem NMR Spektrum gemessene Frequenzdifferenz (in Hz) wird aus den Gleichungen (16) und (17) ersichtlich.

$$(16) \quad E_{NN'} = 1/3 k \left(\sum_n \langle 0 | \hat{A}_N | n \rangle \langle n | \hat{B}_{N'} | 0 \rangle / E_0 - E_n \right) I_N I_{N'}$$

$$(17) \quad J_{NN'} = 2 k / 3h \sum_n \langle 0 | \hat{A}_N | n \rangle \langle n | \hat{B}_{N'} | 0 \rangle / E_0 - E_n$$

1.3. Die Ramsey-Formel

Ramsey³ hat gezeigt, dass bei bewegungsgemittelten Kopplungstensoren die Kreuzterme zwischen $\hat{H}^{1b}$, $\hat{H}^2$ und $\hat{H}^3$ in $\langle 0 | \hat{A}_N | n \rangle \langle n | \hat{B}_{N'} | 0 \rangle$ verschwinden, sodass die drei Beiträge zur Störungsrechnung separat behandelt werden können. Der Ausdruck für eine bewegungsgemittelte Kopplung lautet entsprechend dem Formalismus für die $\hat{H}'$ -Operatoren in (1) folgendermassen:

$$(18) \quad J_{NN'} = J_{NN'}^{1b} + J_{NN'}^2 + J_{NN'}^3$$

Es gelingt den dominanten Anteil der Kopplungskonstante, den Fermi-Kontaktanteil $J_{NN'}^3$, separat zu behandeln. Ramsey entwickelte die in (19) dargestellte Beziehung für den Fermi-Kontaktterm.

Tabelle 1: Berechnete C,C-Kopplungskonstanten (Hz), aufgeschlüsselt nach Orbital-, Dipol- und Fermi-Kontaktterm.⁶

Molekül	Fermi-Kontakt	Orbital	Dipol	Total	Experiment
CH ₃ -CH ₃	34.45	-2.80	1.41	33.05	34.6
CH ₂ =CH ₂	68.27	-17.89	7.55	57.93	67.6
C ₆ H ₆	63.13	-12.28	3.00	53.85	57.0
HC≡CH	136.14	22.72	16.00	174.86	171.5

1.5. Näherungsformeln

McConnell⁵ führte eine gemittelte Triplettanregungsenergie $^3J E^{-1}$ ein und erhielt für die Fermi-Kontaktwechselwirkung zweier Kerne einen Ausdruck, welcher nur vom Grundzustand abhängig ist.

$$(20) \quad J_{NN'}^3 = \frac{16}{9} \beta^2 h \gamma_N \gamma_{N'} s_{N'}^2(o) s_N^2(o) p_{sNsN'}^2 \quad ^3J E^{-1}$$

$p_{sNsN'}^2$ ist die Matrix der Bindungsordnung zwischen den s-Atomorbitalen an den Kernen N und N'.

Pople und Santry⁴ vereinfachten die Ramsey-Formel (19), indem sie das Problem der Anregungsenergien für ein einzelnes Elektron aus dem Grundzustand i auf einen gerechneten virtuellen angeregten Zustand a reduzierten. Die ursprüngliche Gleichung für die Fermi-Kontaktwechselwirkung vereinfacht sich zu der Form (21).

$$(21) \quad J_{NN'}^3 = - \frac{64}{9} \beta^2 h \gamma_N \gamma_{N'} s_N^2(o) s_{N'}^2(o) \times \sum_i^{bes} \sum_{\alpha}^{unb} c_{iN} c_{\alpha N} c_{iN'} c_{\alpha N'} \quad (^3J E_{i \rightarrow j}^{-1})$$

s_i^2 ist die Spindichte eines s-Atomorbitals am Kernort. Die c_i sind

LCAO-Koeffizienten. Für Modelle mit unabhängigen Elektronen sind die Unterschiede in den Orbitalenergien durch die Atom-Atom Polarisierbarkeit ausdrückbar.

$$(22) \quad J_{NN'}^3 = \frac{16}{9} \beta^2 h \gamma_N \gamma_{N'} s_N^2(o) s_{N'}^2(o) \pi_{NN'}$$

$$(23) \quad \pi_{NN'} = -4 \sum_i^{\text{bes}} \sum_\alpha^{\text{unb}} \frac{c_{iN} c_{\alpha N} c_{iN'} c_{\alpha N'}}{\epsilon_i - \epsilon_\alpha}$$

Die Formel von McConnell lässt nur Kopplungen mit positivem Vorzeichen zu. Die Gleichung von Pople und Santry ist diesbezüglich realistischer.

Armour und Stone⁷ kritisierten den Formalismus der unabhängigen Elektronen und befürworteten SCF-MO-Wellenfunktionen.

1.6. Semiempirische SCF-MO-Wellenfunktionen

(SCF = Self Consistent Field)

Durch die SCF-MO Methode wird ein Mehrelektronensystem angenähert. Konfigurationswechselwirkungen werden mit CI-Verfahren berücksichtigt. (CI = Configurational Interaction). Im Rahmen der Hartree-Fock Theorie werden dabei jene Wellenfunktionen ermittelt, deren Slater Determinante minimale Energie ergibt.^{8,9}

Die rechnerische Behandlung des Eigenwertproblems benutzt ein iteratives Rechenverfahren, die SCF-Methode. Mit jedem Iterationsschritt wird im SCF-Prozedere die totale Energie verkleinert. Beim Erreichen einer minimalen Energie E(SCF) wird der Iterationsprozess abgebrochen. Das System der Wellenfunktionen ist in sich konsistent geworden und kann in der Störungsrechnung verwendet werden.

Bei der Lösung des Eigenwertproblems werden je nach Verfahren eine Reihe von Integralen vernachlässigt. Das heute am meisten verwendete Verfahren stammt von Pople¹⁰ und heisst INDO (Intermediate Neglect of Differential Overlap).

In den semiempirischen Berechnungen von Kopplungskonstanten wird eine Parametrisierung durchgeführt. Zwei häufig benutzte Verfahren sind SCF/INDO und FPT (Finite Perturbation Theory) im Rahmen der Hartree-Fock Theorie in Gegenwart einer endlichen Störung.

2. Empirische Beziehungen

Die Berechnungen von Kopplungskonstanten auf der Basis der Quantentheorie gibt die Absolutbeträge und die Vorzeichen der Kopplungen meistens richtig wieder. Die Theorie der Kopplungskonstanten ist jedoch selten geeignet, die Auswirkungen kleiner Strukturveränderungen auf die Kopplungskonstanten z.B. Substitutionseffekte oder Konformationseinflüsse genügend genau zu beschreiben.

2.1. Ueberblick

Zurückgreifend auf die Ramsey-Formel (19) kann gesagt werden, dass eine beliebige Kopplungskonstante abhängig ist vom Typ der koppelnden magnetischen Kerne und von der elektronischen Umgebung der Kerne.

$$(24) \quad J = j(\gamma_N \gamma_{N'}) \mathbf{J}(\psi_i^{el.})$$

Der Faktor $j(\gamma_N \gamma_{N'})$ ist leicht durchschaubar. Er kann zum Beispiel anhand einer Isotopensubstitution verifiziert werden. (vgl. III. 3.2.4)

Vergleicht man geometrische Analoga von Kopplungen, die nicht einer Isotopensubstitution entsprechen, so lassen sich oft Beziehungen des Typs (25) finden.^{11,12,13}

$$(25) \quad J(N, N') = \text{Konst. } J(M, M')$$

Atomkerne der zweiten und höherer Perioden bedürfen einer modifizierten Behandlung. Für Kopplungen über Mehrfachbindungen müssen Korrekturen für die Orbital- und Dipolinteraktionen mit den Kernspins eingeführt werden^{1,14}.

Wie in der Folge anhand experimenteller Kopplungskonstanten dargelegt werden soll, lassen sich $J(\psi_i^{el})$, dem in Darstellung 1 gezeigten Muster entsprechend, empirisch ganz bestimmte Strukturmerkmale zuordnen.

Darstellung 1: Systematik der Einflüsse definierter Strukturmerkmale auf 1J -Kopplungskonstanten.

a) Konstitutionseffekte

- Hybridisierung der Kopplungspartner
- Substituenten an Kopplungspartnern
- Ionische Substituenten
- Anzahl der Kopplungswege

b) Konformationseffekte

- Benachbarte freie Elektronenpaare
 - Benachbarte π -Systeme
 - Benachbarte leere Orbitale
-

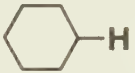
4.4. Systematik der Einflüsse definierter Strukturmerkmale auf 1J -Kopplungskonstanten

Konstitutionseffekte bei Kopplungskonstanten beziehen sich hauptsächlich auf die Hybridisierung und die Substituentenbeiträge. Die Hybridisierung wie auch die Substituentenelektro-negativität sind Begriffe für künstliche, nicht direkt messbare, Grössen. Die in der Folge vorgestellten "empirischen" Gleichungen müssen unter diesem begrifflichen Vorbehalt betrachtet werden.

2.2.1. Hybridisierung

$^1J(C,H)$: Die experimentellen $^1J(C,H)$ Kopplungskonstanten können augenfällig mit der Hybridisierung an Kohlenstoff in Verbindung gebracht werden.^{13,15-19}

Tabelle 2: Vergleich der $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstanten mit der Hybridisierung am Kohlenstoff.

CH_3-H	125 Hz		$160 \pm 2 \text{ Hz}$
$H_2C=CH-H$	157 Hz		$136 \pm 1 \text{ Hz}$
$HC\equiv C-H$	250 Hz		$131 \pm 2 \text{ Hz}$
			$127 \pm 2 \text{ Hz}$

Muller und Pritchard²⁰ kamen durch starke Vereinfachung der Theorie zur Beziehung (26).

$$(26) \quad ^1J(C,H) = 500 a^2$$

Maksic²¹ stützte eine ähnliche Beziehung auf weniger umstrittene Näherungen ab. Die modifizierte Gleichung (27) enthält jedoch einen weiteren nur aus zusätzlichen Rechnungen zugänglichen Parameter. ($s^2(C,H)$)

$$(27) \quad ^1J(C,H) = 1079 a^2(C,H) / (1 + s^2(C,H)) - 54.9$$

a^2 bedeutet in (26) und (27) den s-Charakter des Hybridorbitals am Kohlenstoff. Maksic berechnete den s-Charakter mit der "maximum overlap method". $S^2(C,H)$ ist das Ueberlappungsintegral zwischen dem Hybrid- und dem $1s$ -Orbital.

In der Näherung von McConnell ist die Hybridisierungsinformation in der Bindungsordnungsmatrix $P(sC,sH)$ enthalten. Maciel²² berechnete mit dem FPT/INDO Verfahren $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstanten in Aliphaten des Typs CHXYZ, HXC=Y und HC≡X. Es wurde eine gute lineare Abhängigkeit der berechneten Kopplung von der Bindungsordnung $p^2(sC,sH)$ gefunden.

$^1J(C,C)$: Ein Blick auf Tabelle 3 zeigt, dass auch die $^1J(C,C)$ -Kopplungskonstanten von der Hybridisierung der Kopplungspartner beeinflusst werden.^{13,15,23,24}

Tabelle 3: $^1J(C,C)$ -Kopplungskonstanten in Abhängigkeit von der Hybridisierung der beiden Kopplungspartner

H_3C-CH_3	34.6 ± 0.1 Hz
$H_2C=CH_2$	67.6 ± 0.2 Hz
Benzol	55.8 ± 0.5 Hz
$H-C\equiv C-H$	172.0 ± 1.0 Hz

Für $^1J(C,C)$ -Kopplungen wurden Gleichungen publiziert²⁵⁻²⁷, welche das Produkt der s-Charaktere (berechnet mit INDO) beider Kerne (A und B) enthalten.

$$(28) \quad ^1J(C,C) = 0.0621 (\%s_A) (\%s_B) - 10.2 \text{ Hz}$$

Beziehung (28) gibt insbesondere die negativen Kopplungen $^1J(C_1,C_3)$ in Bicyclobutanderivaten und die kleinen Kopplungen in anderen gespannten Carbocyclen gut wieder (vgl. I.2.2.4.).

$^1J(C,N)$: Binsch et al. fanden, dass $^1J(C,N)$ -Kopplungskonstanten von der Hybridisierung der beiden Kerne abhängig sind.²⁸

$$(29) \quad {}^1J(C,N) = 0.0125 \quad (\% s_C) (\% s_N)$$

Für Kopplungen zu Stickstoff müssen zusätzliche Wechselwirkungen mit dem freien Elektronenpaar am Stickstoff in Betracht gezogen werden ^{29,30}. Mehrfachbindungen zwischen C und N verursachen einen gegenüber dem Fermi-Kontaktterm nicht mehr zu vernachlässigenden Orbital- und Dipolbeitrag. In solchen Fällen (Nitrile, Isocyanide usw.) führt die Binsch-Gleichung (29) zu falschen Ergebnissen.

Tabelle 4: Abhängigkeit der ${}^1J(C,N)$ von der Hybridisierung.

H_3C-NH_2	-4.5 Hz
$\emptyset HC=NCH_3$	(-)7.1 Hz
$H_3CC\equiv N$	-17.5 Hz

Zusammenfassung: Die Spin-Spin-Kopplung zwischen zwei beliebigen, direkt gebundenen magnetischen Kernen N und N' hängt von der Hybridisierung an den betrachteten Atomen ab. Bei Dominanz des Fermi-Kontaktterms lässt sich eine Beziehung des Typs (30) als Basisgleichung für eine empirische Gleichung anwenden.

$$(30) \quad {}^1J(N,N') = A (\% s_N) (\% s_{N'}) + B$$

2.2.2. Substituenteneinflüsse

Die Kopplungskonstante wird beeinflusst von der Elektronegativität und der Anzahl der Substituenten.

${}^1J(C,H)$: Für ${}^1J(C,H)$ -Kopplungen in substituierten Methanen findet man, dass Substituenten am Kohlenstoff die Kopplung mit zunehmender Elektronegativität und zunehmender Anzahl vergrössern.²²

Tabelle 5³¹⁻³⁶ demonstriert die Abhängigkeit von ${}^1J(C,H)$ -Kopplungen von der Elektronegativität. Es ist ersichtlich, dass keine

lineare Beziehung zwischen der Elektronegativität und der Kopplung besteht.

Tabelle 5: $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstanten in Abhängigkeit von der Elektronegativität der Substituenten.

Verbindung	$^1J(C,H)$
$Si(CH_3)_4$	+ 118 Hz
$C(CH_3)_4$	+ 124 Hz
$N(CH_3)_3$	+ 132 Hz
$P(CH_3)_3$	+ 127 Hz
$O(CH_3)_2$	+ 140 Hz
$S(CH_3)_2$	+ 138 Hz

Tabelle 6^{31,37-40} zeigt, dass die beschriebene Abhängigkeit der Kopplung von der Elektronegativität nicht immer zutrifft (monosubstituierte Halogenmethane). Hingegen besteht zwischen der Anzahl gleicher Substituenten und der Kopplung ein linearer Zusammenhang.^{41,42} Auf diesem empirischen Zusammenhang basiert die Beziehung von Malinowski.

Tabelle 6: $^1J(C,H)$ Hz in substituierten Methanderivaten

X	CH_3X	CH_2X_2	CHX_3
F	149.1	184.5	239.1
Cl	148.6	176.5	208.1
Br	150.5	177.7	204.3
I	150.3	171.9	-
NO_2	146.7	169	195.8
OMe	139.6	161.8	-
OEt	-	161.1	185.1
NMe_2	131.7	136.6	-
CH_3	126	117	132

Malinowski⁴² fand analog für eine Reihe verschiedenartiger Substituenten eine Additivitätsregel zur Berechnung von $^1J(C,H)$ in Methanderivaten. Dabei wird für die Substituenten ein Inkrement ζ aus monosubstituierten Methanen ermittelt. Die $^1J(C,H)$ Kopplungskonstante lässt sich als Summe der Substituenteninkremente $\zeta(X)$, $\zeta(Y)$ und $\zeta(Z)$ der drei Substituenten X,Y und Z berechnen.

$$(31) \quad ^1J(C,H) = \zeta(X) + \zeta(Y) + \zeta(Z)$$

Die Berechnung von $^1J(C,H)$ in Aminosäuren und Peptiden mit Hilfe zusätzlich ermittelter Inkremente ζ wird in Kapitel III.7.3. beschrieben.

Tabelle 7: $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstante in monosubstituierten Methanderivaten und Malinowski-Inkremente $\zeta(X)$

Substituent	$^1J(C,H)$ Hz	$\zeta(X)$ Hz
-H	125	41.7
-F	149	65.6
-Cl	150	68.6
-Br	152	68.6
-I	151	67.6
-OC ₆ H ₅	143	59.6
-OH	141, 144	59.6
-S(O)CH ₃	138	54.6
-NH ₂	133	49.6
-NHCH ₃	132	48.6
-N(CH ₃) ₂	131	47.6
-CN	136	52.6
-CCl ₃	134	50.6
-CH ₂ I	132	48.6
-C $\equiv$ CH	132	48.6
-CHCl ₂	131	47.6
-COOH	130, 131	47.1
-CH ₂ Br	128	44.6
-CH ₂ Cl	128	44.6
-CHO	127	43.6
-CH ₃	126	42.6
-C ₆ H ₅	126	42.6
-CH(CH ₃)Br	126	42.6
-C(O)CH ₃	126, 122	40.6
-C(CH ₃) ₃	124, 120	38.6

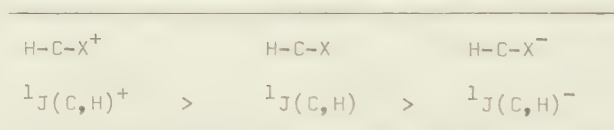
$^1J(C,C)$: In Kapitel IV wird eine empirische Beziehung vorgestellt, welche es erlaubt, C,C-Kopplungen über Einfachbindungen auf 1-2 Hz genau abzuschätzen.¹³ Für Kopplungen über C,C-Mehrfachbindungen ergibt die Methode zum Teil grössere Abweichungen zu den experimentellen Kopplungen.

2.2.3. Ionische Substituenten

Das Verhalten von Kopplungskonstanten unter dem Einfluss benachbarter ionischer Gruppen kann als Spezialfall der Substituenteneffekte behandelt werden.

$^1J(C,H)$: Kationische Substituenten an einem Kopplungspartner geben im Vergleich zur neutralen Spezies einen positiven, anionische Substituenten einen negativen Beitrag an die Kopplung.

Darstellung 2: Einfluss geladener Substituenten auf $^1J(C,H)$



Zum Beispiel wird im ladungsneutralen Tetramethylmethan eine C,H-Kopplungskonstante von 124 Hz, im Trimethylcarbeniumion hingegen eine solche von 132 Hz gemessen. Andererseits beträgt die C,H-Kopplung in Methanol 142 Hz, im deprotonierten Alkohol jedoch nur noch 131 Hz.⁴³

Anhand von Titrationsexperimenten an Aminosäuren und Peptiden wurde im Rahmen dieser Arbeit die Abhängigkeit der $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstanten vom Ionisationszustand untersucht. (vgl. III.7.) Allgemein wurde festgestellt, dass für ein direkt an die ionogene Gruppe gebundenes C α die $^1J(C\alpha,H)$ -Kopplung beim Uebergang vom kationischen Zustand zum Zwitterion um ca. 1-2 Hz und beim Uebergang vom Zwitterion zum Anion um ca. 6-9 Hz kleiner wird. Für nicht direkt an die ionogene Gruppe gebundene C-Atome werden schwächere Effekte beobachtet.

$^1J(C,C)$: Messungen von $^1J(C,C)$ -Kopplungskonstanten in Aminosäuren zeigen keine grosse Variabilität der Kopplung in Abhängigkeit vom Typ der Aminosäure. Für Alanin, Leucin, Valin und Iso-leucin beträgt die $^1J(CO,C\alpha)$ im Kation zwischen 59.0 und 59.5 Hz. Für das Zwitterion wird eine Kopplung von 53.5 bis 54.1 Hz gemessen. Das Anion besitzt die niedrigste $CO,C\alpha$ -Kopplungskonstante mit Werten zwischen 52.6 bis 53.4 Hz. Die Kopplungen zwischen $C\alpha$ und $C\beta$ steigen mit zunehmendem pD (Säuregrad) schwach von 32-34 Hz um jeweils 1-2 Hz an.⁴⁴

Für die verschiedenen Protonierungsstufen in Aminosäuren wurden lineare Korrelationen zwischen der ^{13}C -chemischen Verschiebung δ_{obs} und der C,C -Kopplungskonstanten J_{obs} gefunden.⁴⁴

$$(32) \quad \delta_{obs} = k J_{obs} + C$$

$$k = \frac{\delta_b - \delta_a}{J_b - J_a}, \quad C = \frac{\delta_a J_b - \delta_b J_a}{J_b - J_a}$$

Dabei bedeuten δ_a , δ_b und J_a , J_b die chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten der protonierten resp. deprotonierten Spezies.

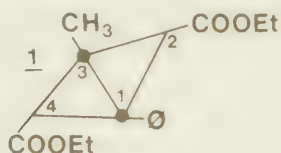
2.2.4. Anzahl der Kopplungswege

Kann die Spin-Spin Wechselwirkung über mehrere Kopplungswege von Kern zu Kern weitergeleitet werden, so findet man Additivität der Kopplungsbeiträge für die separaten Kopplungswege.⁴⁵ Aufgrund der Additivität lässt sich die negative $^1J(C,C)$ -Kopplungskonstante in Bicyclobutanderivaten erklären.^{46,47}

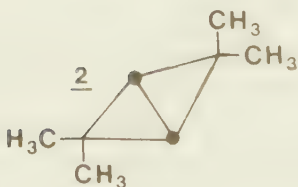
Die gemessenen Kopplungen in 1 und 2 (Figur 1) kommen demzufolge zustande als Summe aus den negativen $^2J(C,C)$ Kopplungen über zwei identische Kopplungswege und die Spin-Spin-Wechselwirkung über die Brückenbindung ($^1J(C,C)$). Für die Spin-Spin Wechselwirkung über die Bindung C_1,C_3 werden mit semiempirischen "coupled Hartree-

Fock/INDO" Rechnungen -0.92 Hz berechnet.⁴⁸ Dies bedeutet, dass der s-Charakter der Hybridorbitale für die C_1 , C_3 -Bindung sehr klein ist. (Gleichung (28)). Die negativere Kopplung in 2 beruht offenbar auf Substituenteneffekten auf die $^2J(C,C)$ -Kopplungen über die zwei identischen Kopplungswege.

Figur 1: Negative $^1J(\dot{C},\dot{C})$ -Kopplungskonstanten in Bicyclobutanen



$$^1J(\dot{C},\dot{C}) = -5.4 \text{ Hz}$$



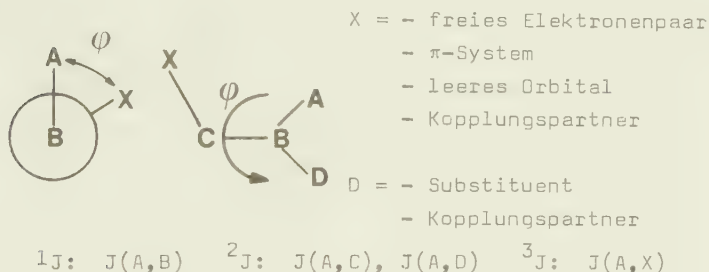
$$^1J(\dot{C},\dot{C}) = -17.49 \text{ Hz}$$

2.3. Konformationseffekte

Mit Blick auf die in Peptiden untersuchte Konformationsabhängigkeit der $^1J(C\alpha,H)$ -Kopplungskonstanten sollen bekannte, theoretisch fundierte Beziehungen zwischen Kopplungskonstanten und Torsionswinkeln (Figur 3) erörtert werden. Konformationelle Effekte auf 1J -, 2J - und 3J -Kopplungskonstanten können mit dem in Figur 2 gezeigten Schema erfasst werden.

A stellt dabei den einen Kopplungspartner dar. B, C und D sind Atome oder Kopplungspartner. X ist die Ursache der konformationellen Variabilität. φ beschreibt die Konformation bezüglich A und X.

Figur 2: Schematische Darstellung von möglichen Konformationseffekten für Kopplungen über eine, zwei und drei Bindungen.



Konformationell variierbare Kopplungskonstanten lassen sich grundsätzlich durch eine endliche Fourierreihe der Form (33) annähern. Die Gleichung (33) besitzt a priori keinen physikalischen Hintergrund. In sehr vielen Fällen jedoch geht sie (oder eine gleichwertige $\cos^2$ -Beziehung) aus quantenmechanischen Berechnungen hervor.

$$(33) \quad J = A + \sum_i \sum_j (B_{ji} \cos(i) \varphi_j + C_{ji} \sin(i) \varphi_j)$$

In (33) entspricht A dem Konstitutionsbeitrag an die Kopplungskonstante. Die Summe enthält alle konformationell variablen Effekte. Die Anzahl der Glieder der Reihe und die Auswahl der Terme müssen den experimentell gesicherten Befunden entsprechen. Für eine empirische Behandlung müssen genügend Gleichungen für bekannte Kopplungskonstanten und Torsionswinkel ermittelt werden, um die Konstanten A, B_{ji} und C_{ji} in einem linearen

Gleichungssystem ermitteln zu können. Die Güte einer empirisch ermittelten Beziehung vom Typ (33) muss an mehreren Fällen, für welche die Kopplungskonstanten wie auch die Torsionswinkel bekannt sind, getestet werden.

2.3.1 Vicinale Kopplungskonstanten

Die wohl bekanntesten Beziehungen vom Typ (33) nehmen Bezug auf die Torsionswinkelabhängigkeit von vicinalen Kopplungskonstanten.

Karplus^{49,50} beschrieb auf der Basis der Valence-bond Theorie die 3J -Kopplungskonstanten zwischen den Kernen H,H ; H,F und F,F mit der Beziehung (34).

$$(34) \quad {}^3J(N,N') = A + B \cos \varphi + C \cos 2\varphi$$

Allgemein wird für $^3J(H,H)$ -Kopplungen gefunden, dass bei $\varphi = 0^\circ$ und $\varphi = 180^\circ$ ein Maximum in der Karpluskurve auftritt. Die Kopplung für $\varphi = 180^\circ$ ist deutlich höher als jene für $\varphi = 0^\circ$. Für $\varphi = 90^\circ$ und $\varphi = 270^\circ$ wird ein Minimum beobachtet. Die Kopplung kann sehr klein werden.

Allgemein wird die positive vicinale Kopplungskonstante durch einen elektronegativeren Substituenten an einem Kopplungspartner leicht erhöht, während die Kopplung durch elektronegative Substituenten im Kopplungsweg zum Teil wesentlich erniedrigt wird. Zusätzlich überlagern, wie neueste semiempirische MO-Berechnungen und experimentelle Untersuchungen in Zuckern zeigen, konformationell variable Effekte der Substituenten die Karpluskurve.⁵¹

Abgesehen von der Berücksichtigung konformationsabhängiger Substituenteneffekte mit Hilfe semiempirischer Berechnungen sind in derselben Absicht Korrekturvorschläge für die Karplusgleichung publiziert worden.

Pachler⁵² schlug für substituierte Aethane eine endliche Fourierreihe der Form (35) vor. (Die Indices x beziehen sich auf den Substituenten X)

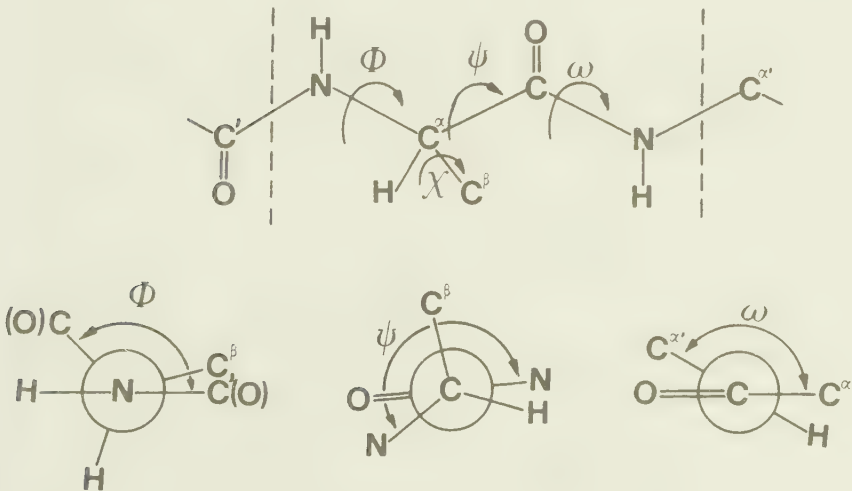
$$(35) \quad {}^3J_{(H,H)} = A_X + B_X \cos\varphi + C_X \cos 2\varphi + D_X \sin\varphi + E_X \sin 2\varphi$$

Ein Vorschlag von Vorontskova wurde heftig kritisiert.^{53,54} Bystrov⁵⁵ zeigte, dass vicinale Kopplungskonstanten auf analoge Weise zur Konformationsanalyse in Peptiden verwendet werden können. Die von Bystrov publizierten Gleichungen, z.B. Gleichung (36), sind identisch mit der ursprünglichen Karplusbeziehung (34) oder können in die Beziehung (33) umgeformt werden. Sie beziehen sich auf die Kopplungen zwischen H-C α -N-H, C'-N-C α -H und H-C α -C-N in einem Peptidfragment. (vgl. Figur 3)

$$(36) \quad {}^3J_{(N,N')} = A \cos^2\varphi + B \cos\varphi + C \sin^2\varphi$$

Anhand des in Figur 3 dargestellten Peptidfragments wird ersichtlich, dass Beziehung (36) Informationen über die Winkel Φ und Ψ liefern kann.

Figur 3: Bezeichnung der Torsionswinkel Φ , Ψ , ω und χ in einem Peptidfragment



Gleichung (36) wird später anhand von $^3J(C,H)$ -Kopplungen (vgl. III.8.3.1.) in cyclo(Sar)₄ verwendet, um dessen Struktur abzusichern. Zusammen mit Röntgenstrukturdaten wird dann versucht, die Abhängigkeit der $^1J(C\alpha,H)$ -Kopplungskonstanten von den Torsionswinkeln in einer empirischen Beziehung zu formulieren.

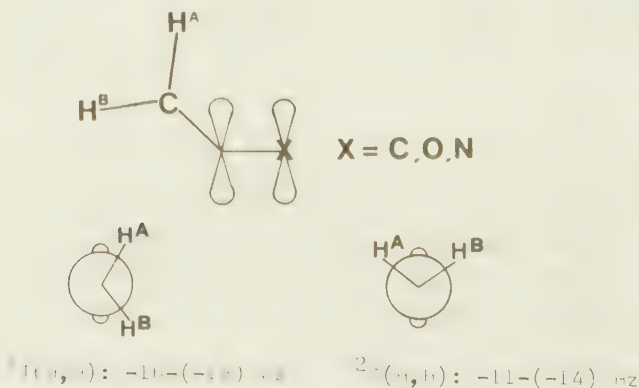
2.3.2. Geminale Kopplungskonstanten

Für $^2J(H,H)$ - wie auch für $^2J(C,H)$ -Kopplungskonstanten wurde eine Konformationsabhängigkeit bezüglich benachbarter π -Systeme berechnet.⁵⁶ Die konformationell variable geminale H,H-Kopplungskonstante benzyllischer Protonen mit dem aromatischen π -System folgt der Beziehung (37).^{56,58}

$$(37) \quad ^2J(H,H) = A + B \cos \varphi + C \cos^2 \varphi$$

Analoge Beziehungen wurden bezüglich benachbarter Doppelbindungen des Typs C=C, C=O, C=N festgestellt.^{57,58} Diese hyperkonjugativen Effekte auf $^2J(H,H)$ liefern bei optimaler Hyperkonjugation ($\varphi = 0^\circ$) einen negativen Beitrag zur Kopplung.

Figur 4: Konformationsabhängigkeit von $^2J(H,H)$ -Kopplungskonstanten

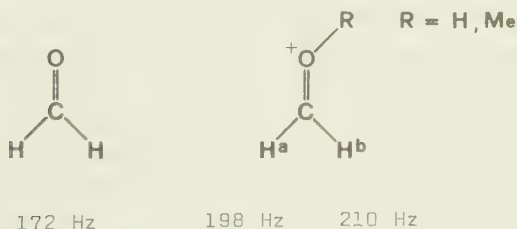


Die geminalen H,H-Kopplungen der α -Methylengruppen in cyclo-(Sar)₄ werden in Kapitel III. 8.3.1. zusammen mit $^3J(C,H)$ -Kopplungen benutzt, um die aus der Röntgenstrukturanalyse bekannte Konformation des Peptids in Lösung zu bestätigen.

2.3.3. Konformationsabhängigkeit von $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstanten

Theoretische wie auch experimentelle Untersuchungen belegen eine Konformationsabhängigkeit dieser Kopplung von benachbarten Orbitalen. (X = freies Elektronenpaar, besetztes oder leeres p_z -Orbital). Es handelt sich in allen drei Fällen um hyperkonjugative Effekte. Untersuchungen kationischer protonierter resp. O-methylierter Formaldehyde und Acetaldehyde ergaben für die $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstante eine Erhöhung von 11-38 Hz gegenüber den ladungsneutralen Spezies. Zusätzlich findet man für die in Figur 5 dargestellten Kationen unterschiedliche Kopplungen $^1J(C,H^a)$ und $^1J(C,H^b)$. Die Zuordnung der Protonen H^a und H^b zu ihren NMR-Signalen wurde mit Hilfe der geminalen und vicinalen H,H-Kopplungen (R=H) durchgeführt.⁵⁹

Figur 5: $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstante in analogen ungeladenen und geladenen Carbonylverbindungen.



Der Unterschied von 12 Hz wird auf die Nachbarschaft freier Elektronenpaare am Sauerstoff zurückgeführt. Der Einfluss der

freien Elektronenpaare wirkt sich nur auf $^1J(C,H^a)$ aus. $^1J(C,H^b)$ entspricht dem "normalen" Wert der Kopplungskonstanten im Kation. Demnach leisten die benachbarten freien Elektronenpaare am positivierten Sauerstoff einen negativen Beitrag zu $^1J(C,H^a)$.

Treten freie Elektronenpaare in ungeladenen Systemen mit der C,H-Bindung in hyperkonjugative Wechselwirkung so wird für $\varphi = 0^\circ$ ein maximaler positiver Beitrag zur Kopplungskonstanten festgestellt. Zum Beispiel bewirkt die Wechselwirkung der C,H-Bindung mit dem freien Elektronenpaar am Stickstoff in N-Methylaziridin in syn- und anti- Anordnung $^1J(C,H)$ -Kopplungen von 171 resp. 161 Hz.⁶⁰ Die beiden Stereoisomere von Acetaldoxim besitzen $^1J(C,H)$ -Kopplungen von 177 und 163 Hz. Analoge Effekte sind ebenfalls für sauerstoffhaltige Heterocyclen bekannt. Sie wurden dazu verwendet, um α - und β -Anomere in Hexopyranosen und Pentopyranosen zu unterscheiden.^{61,62} Im Tetrameren von Formaldehyd, dem Kronenäther 1,3,5,7-Tetroxacan, wurden $^1J(C,H)$ -Kopplungen von 173.7 und 154.4 Hz gemessen.⁶³ (Die Zuordnung der Protonen ist in der zitierten Publikation offensichtlich falsch vorgenommen worden.)

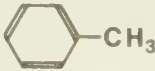
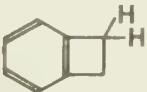
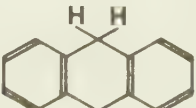
In cyclischen Sarcosylpeptiden werden ähnliche Effekte beobachtet, welche sich mit der Hyperkonjugation der C α ,H-Bindung mit dem freien Elektronenpaar im p-Orbital des Stickstoffes (resp. Amidsystem) erklären lassen.⁶⁴ Die Untersuchungen hyperkonjugativer Konformationseffekte auf $^1J(C,H)$ in Peptiden wurde ausgehend von der erwähnten Arbeit auf breiterer Ebene durchgeführt. Die Resultate sind in Kapitel III.8. zusammengefasst.

Die Auswirkung hyperkonjugativer Effekte auf $^1J(C,H)$ in Verbindung mit Doppelbindungen oder ausgedehnteren π -Systemen sind bislang nicht speziell untersucht worden. Im besonderen fehlen Berechnungen, welche Auskunft darüber geben könnten, ob für optimale Hyperkonjugation ein positiver oder negativer Einfluss auf die Kopplung zu erwarten sei.

Vergleiche von experimentellen $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstanten in ähnlichen Verbindungen, einmal in Gegenwart eines π -Systems und einmal ohne diesen Einfluss, lassen auf einen schwach positiven

Beitrag benachbarter π -Systeme schliessen.

Tabelle 8: Einfluss von π -Systemen auf $^1J(C,H)^{31}$

CH₄	125	Hz		126 Hz
	136	± 1 Hz		138. Hz
	127	± 1 Hz		128 Hz

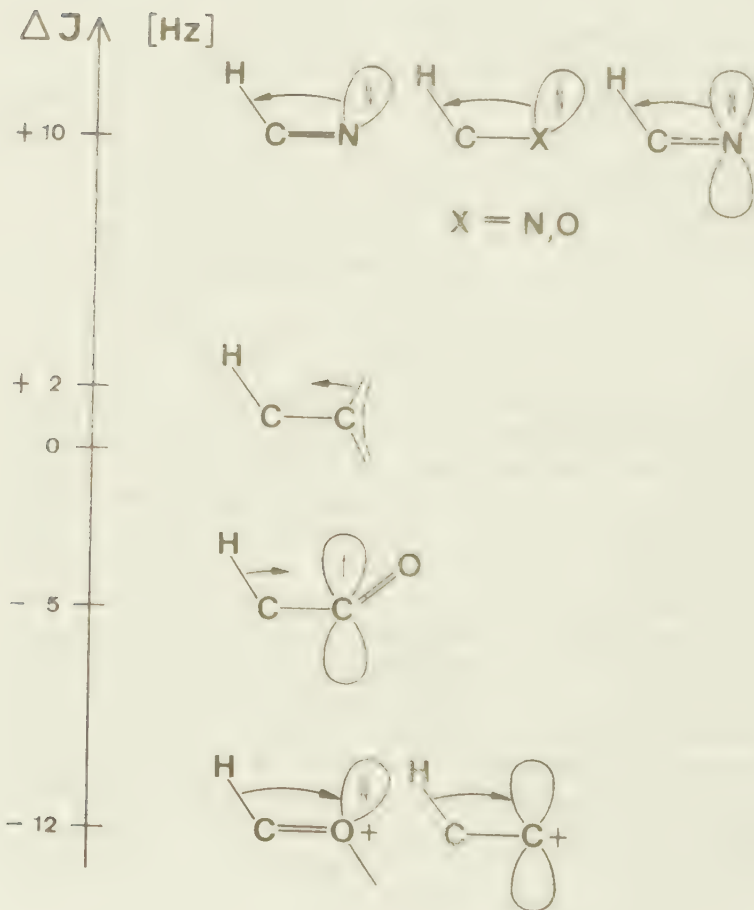
Aufgrund experimenteller Befunde an Peptiden wird in Kapitel III. 8.4. gezeigt, dass die C=O-Gruppierung eines Amidsystems im Falle optimaler Hyperkonjugation einen negativen Beitrag von ca. 5. Hz an die $^1J(C\alpha,H)$ -Kopplung leistet. Die $^1J(C\alpha,H)$ verhält sich dort bezüglich des CO-Teils des Amidsystems analog zur $^2J(H,H)$ -Kopplung, welche ebenfalls für optimale Hyperkonjugation negativer wird (vgl. Gleichung (72)).⁶⁴

Leere p_z -Orbitale an Carbeniumkohlenstoffen (X =Carbeniumion) liefern bei optimaler Hyperkonjugation ($\varphi = 0^\circ$) einen negativen Beitrag zur $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstanten.⁶⁵ Die Konformationsabhängigkeit lässt sich in diesem Fall durch die Beziehung (38) beschreiben.

$$(38) \quad ^1J(C,H) = 127.74 - 18.4 \cos^2 \varphi + 7.08 \cos^4 \varphi$$

Zusammenfassung: Die beschriebenen hyperkonjugativen Effekte sind in Figur 6 an Strukturfragmenten zusammengefasst dargestellt.

Figur 6: Einfluss hyperkonjugativer Effekte auf die $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstante. Der Pfeil deutet die Richtung der Elektronendichteververschiebung für die Hyperkonjugation an.



Aus Figur 6 kann geschlossen werden, dass benachbarte Orbitale über die Hyperkonjugation die Elektronendichte (Spindichte am Kernort, Bindungsordnung) des C,H-Fragments beeinflussen. Im Falle positiver benachbarter Gruppen wird aus der C,H-Bindung Elektronendichte abgezogen und somit die $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstante verkleinert. Im Falle elektronegativer Substituenten ist ein "basisches" Elektronenpaar in der Lage, der C,H-Bindung Elektronendichte zuzuführen. Die $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstante wächst dann infolge der Hyperkonjugation an.

Der Einfluss der Hyperkonjugation in Kationen verhält sich entgegengesetzt zum Konstitutionseffekt der ionischen Gruppe. Während der Konstitutionseffekt induktiv über die σ -Bindung wirkt und die $^1J(C,H)$ -Kopplung vergrößert, bewirkt der konformationsabhängige Effekt der Hyperkonjugation eine negative Kopplungskonstante.

II. Messtechniken

1. $^1J(C,H)$ -Kopplungen

Protonengekoppelte ^{13}C -Spektren benötigen ohne spezielle Doppelresonanz-Techniken wesentlich mehr Messzeit als rauschentkoppelte Spektren. Das S/N-Verhältnis wird einerseits durch die Aufspaltung der Linien infolge der Kopplungen, andererseits durch den Verlust des NOE stark erniedrigt. Zusätzliche Kopplungen zu Protonen über zwei, drei oder mehr Bindungen können die Auswertung des Spektrums erschweren. Diese C,H long-range Kopplungen lassen sich durch kohärentes "off-resonance" Einstrahlen der Protonenfrequenz zum Verschwinden bringen. Die Kopplungsinformation der resultierenden Spektren beschränkt sich auf die reduzierten $^1J(\text{red})$ -Kopplungskonstanten. Durch

die Technik des "gated-decoupling" kann der NOE auch für protonengekoppelte Spektren wenigstens teilweise erhalten werden.

1.1. Elimination der "long-range" Kopplungen

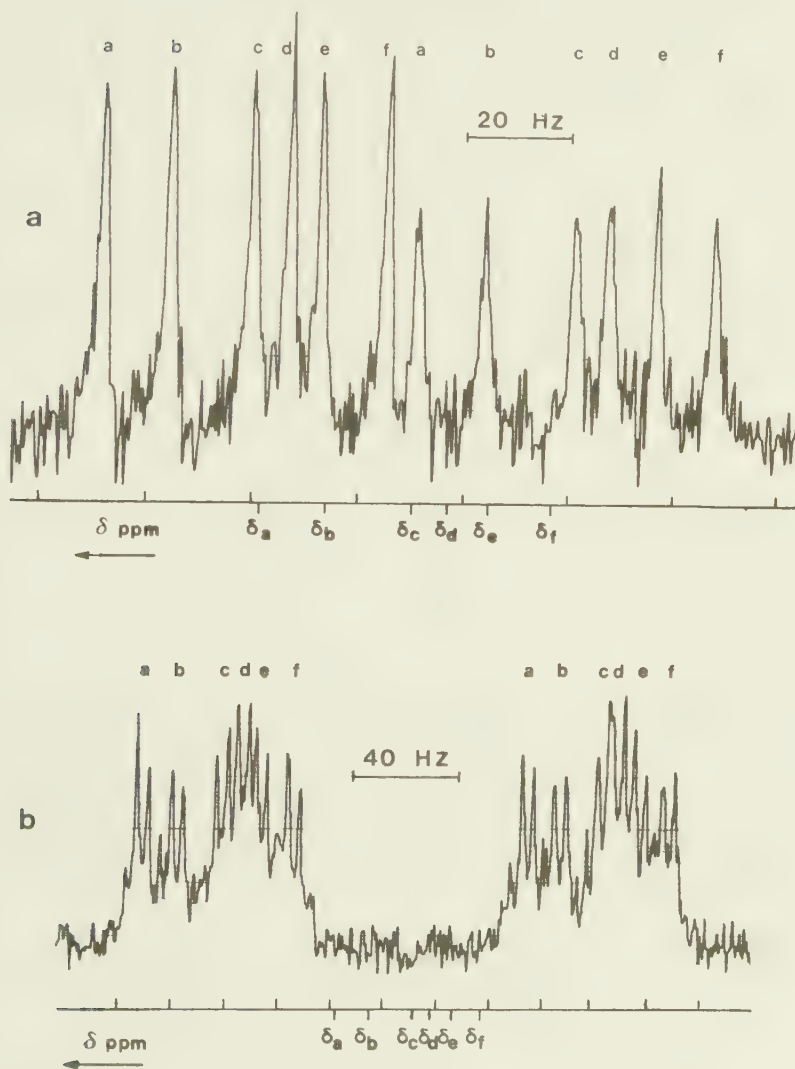
Die $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstanten sind zehn bis hundert Mal grösser als die "long-range" Kopplungen. Durch Doppelresonanzexperimente werden "long-range" Kopplungen stärker betroffen als die $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstanten. Die letzteren sind noch bei recht starken Feldern H_2 und bei nicht zu grosser Selektivität der Einstrahlung als reduzierte Kopplungen $^1J(\text{red})$ aus dem Spektrum zu ermitteln. Long-range Kopplungen verschwinden bei geeigneten Messbedingungen vollständig.

Um aus der reduzierten Kopplungskonstanten $J(\text{red.})$ die $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstante berechnen zu können, müssen die Parameter γH_2 und $\Delta\nu$ bekannt sein.¹²

Die Einstellungen für die Entkopplerfeldstärken am NMR-Gerät müssen mit einer Eichung von $^1J(C,H)$ z.B. an $CHCl_3$ für jede Messung ermittelt werden. Eine zweite Eichung für den Offset der Entkopplerfrequenzen muss anhand des Protonenspektrums vorgenommen werden. Dabei werden die "wiggles" für mehrere Einstrahlfrequenzen im 1H -Spektrum aufgezeichnet. Die Protonensignale lassen sich dann mit dem Offset des Entkopplers korrelieren. $\Delta\nu_i$ ergibt sich als Differenz der Einstrahlfrequenz und den Protonenresonanzen ν_i . γH_2 lässt sich aus $J, J(\text{red})$ und $\Delta\nu$ aufgrund der gewählten Eichungen (z.B. an Chloroform) berechnen. Die "off-resonance" Technik gibt die Möglichkeit der Zuordnung von ^{13}C und 1H -Signalen. Dadurch lassen sich unter Umständen nützliche selektive Entkopplungsexperimente planen.

Im Anhang wird ein Programm vorgestellt, welches die eher mühsame Rechenarbeit für die Berechnung der Parameter $J, J(\text{red}), \gamma H_2$ oder $\Delta\nu$ aus den drei übrigen bewerkstelligt.

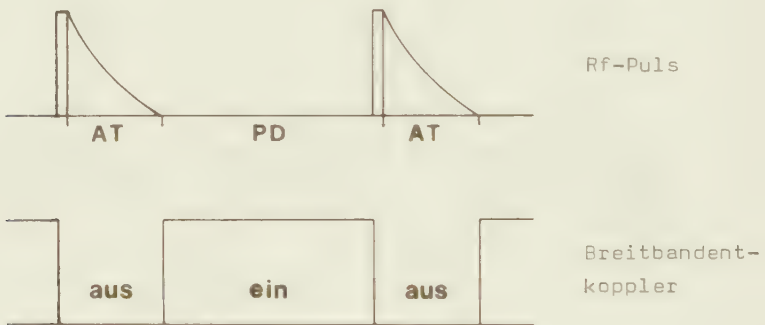
Figur 7: Elimination der $^2J(C\alpha, H)$ -Kopplungen in cyclo-
(L-Ala-L-Ala-D-Ala-L-Ala-D-Ala-D-Ala)
(in D_2O , 18 mm Probenkopf, XL-100-12)
a) Off-resonance Spektrum ($\nu_{H_2} = 624$ Hz)
b) 1H -gekoppeltes Spektrum



1.2. Protonengekoppelte ^{13}C -Spektren mit NOE

Wird während eines genügend langen Pulsdelays (PD) der Protonen-Breitbandentkoppler eingeschaltet, so baut sich ein Kern-Overhauserereffekt auf, der zu einer Intensitätserhöhung der ^1H -gekoppelten ^{13}C -Signale führt.

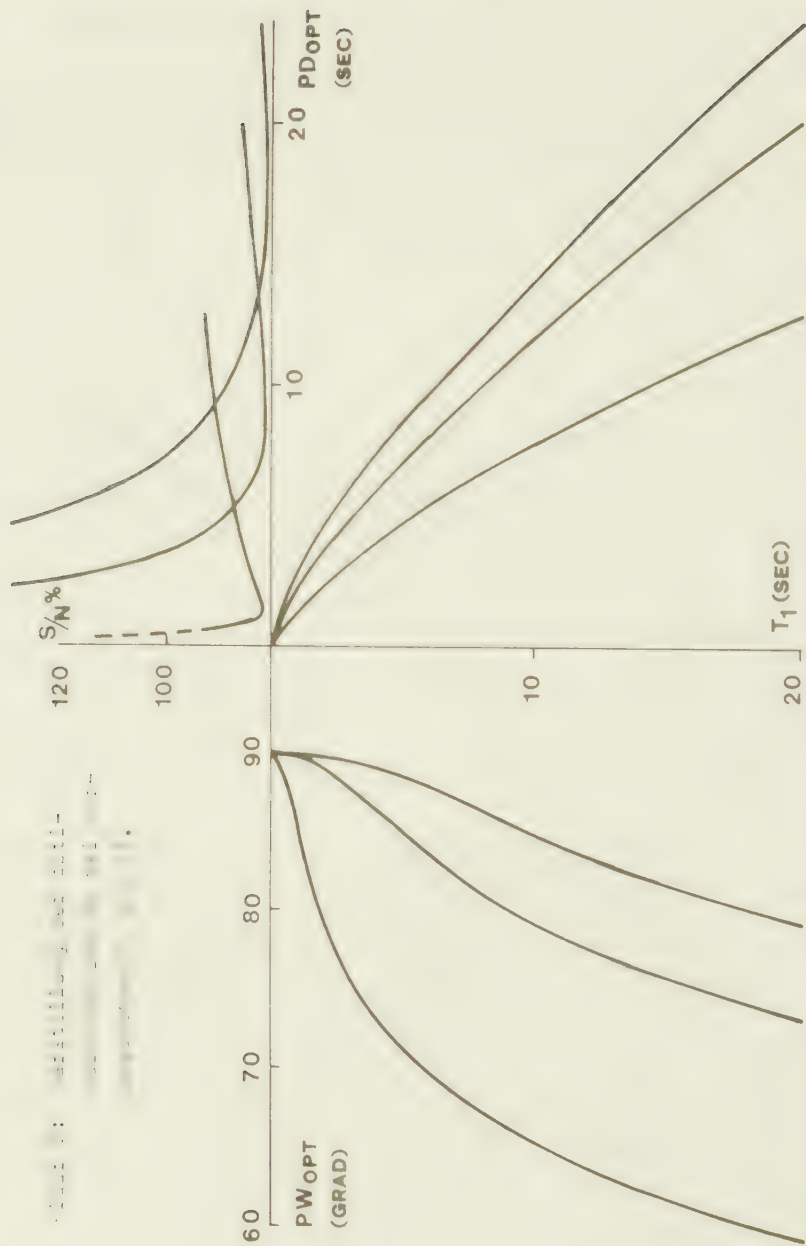
Figur 8: Pulssequenz für protonengekoppelte ^{13}C -Spektren mit NOE



P. Bigler⁶⁶ berechnete für ein Zweispinsystem die optimalen Parameter (PD, PW) und die durch das Einschalten des Breitbandentkopplers während des optimalen Pulsdelays erzielten Signal-Rauschen-Verbesserung. Die Berechnungen basieren auf den Bloch Gleichungen für die z-Magnetisierung unter Doppelresonanzbedingungen. Daraus lässt sich eine Funktion (39) herleiten.^{67,68}

$$(39) \quad S_f = Fkt (M_{0z}, \eta, \gamma_{\text{H}}/\gamma_{\text{C}}, AT, PD, \alpha, T_1, \text{tot. Messzeit})$$

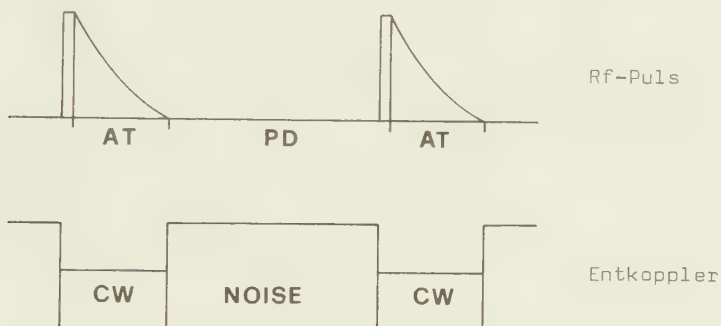
S_f ist dabei die Signalintensität nach n Pulsen. M_{0z} ist die Gleichgewichtsmagnetisierung in z -Richtung. η ist der NOE-Faktor. Die schrittweise Optimierung nach PD und PW führt in einem Zweiparameterfit zu der scheinbar zweidimensionalen Darstellung in Figur 9. Die Funktionen der Grafik entsprechen dem "Grat" einer gewölbten Fläche.



1.3. CW-off-resonance Spektren mit NOE

Falls die Konzeption des NMR-Geräts eine softwaremässige freie Programmierung der Pulssequenz zulässt (z.B. Varian XL-200 Spektrometer), können die beiden beschriebenen Verfahren zur Erhöhung der Signalintensität und Vereinfachung des Spektrums zusammen eingesetzt werden. Die Pulssequenz für eine solche Messung ist in Figur 10 aufgezeigt.

Figur 10: Pulssequenz für ^1H -Entkopplung mit NOE



2. $^1\text{J}(\text{C}, \text{C})$ -Kopplungskonstanten

Die Messung von C,C-Kopplungskonstanten in Verbindungen mit natürlichem Gehalt an ^{13}C -Isotopen ist auf hochkonzentrierte Lösungen beschränkt. ^{13}C -markierte Verbindungen müssen derartig hochgradig angereichert sein, dass die NMR-Signale bevorzugt nur von einem einzigen Isotopomeren stammen. Anderenfalls wird die Analyse des Spektrums wesentlich erschwert oder verunmöglicht.

2.1. Natürlicher ^{13}C -Gehalt

Zur Messung von C,C-Kopplungskonstanten in Verbindung mit natürlicher Isotopenhäufigkeit stehen zwei Methoden zur Verfügung. Die erste Methode ist trivial. Sie besteht in der Messung der ^{13}C , ^{13}C -Seitenbandenspektren. In einer zweiten Methode, welche auf dem XL-200 durchgeführt werden kann, wird das ^{13}C , ^{12}C Hauptsignal im ^{13}C -Spektrum mittels einer Pulssequenz $90^\circ(\text{X})-\tau-180^\circ(\text{Y})-\tau-90^\circ(\text{X})-90^\circ(\Phi)$ unterdrückt.⁶⁹ Die Methode erlaubt die Messung von C,C-long-range Kopplungen und ist in dieser Beziehung der Seitenbandenmethode überlegen. Die Spinnerseitenbanden, welche in der Seitenbandenmethode die Ermittlung der direkten C,C-Kopplungskonstanten erschweren, verschwinden mit der Doppelquantenkohärenzmethode von Bax und Freeman ebenfalls.

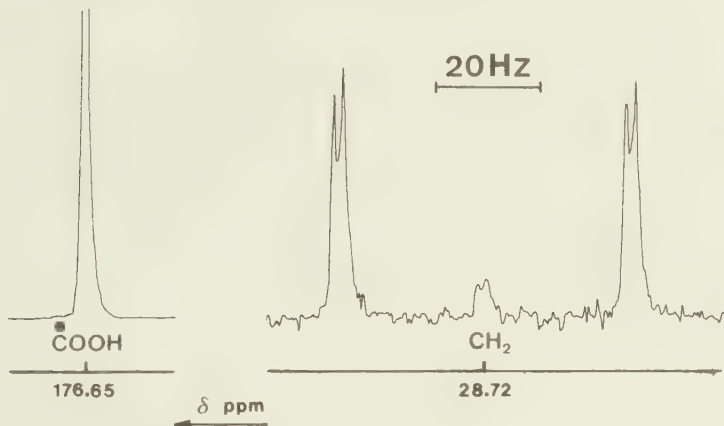
Für schwach konzentrierte Lösungen lässt sich mit der obigen Methode vermutlich schon bei nur teilweiser ^{13}C Isotopenmarkierung ein Zugang zu den C,C-Kopplungen finden, da das schwer interpretierbare Spektrum eines Isotopomerengemisches auf die Zweispinsysteme der künstlich eingeführten und der natürlichen ^{13}C -Atomen reduziert wird.

2.2. Messung der C,C-Kopplungskonstanten in ^{13}C -markierten Verbindungen

Im Falle ^{13}C -markierter Verbindungen können aus den Signalen der nicht zusätzlich markierten ^{13}C -Kerne die Kopplungen zum künstlich markierten Kohlenstoff aus dem Spektrum ermittelt werden. (Figur 11)

Diese Methode wird oft in biosynthetischen Untersuchungen verwendet.⁷⁰

Figur 11: ^1H -breitbandenkoppeltes ^{13}C -Spektrum von 95% $[1,4-^{13}\text{C}]$ Bernsteinsäure in CDCl_3 .

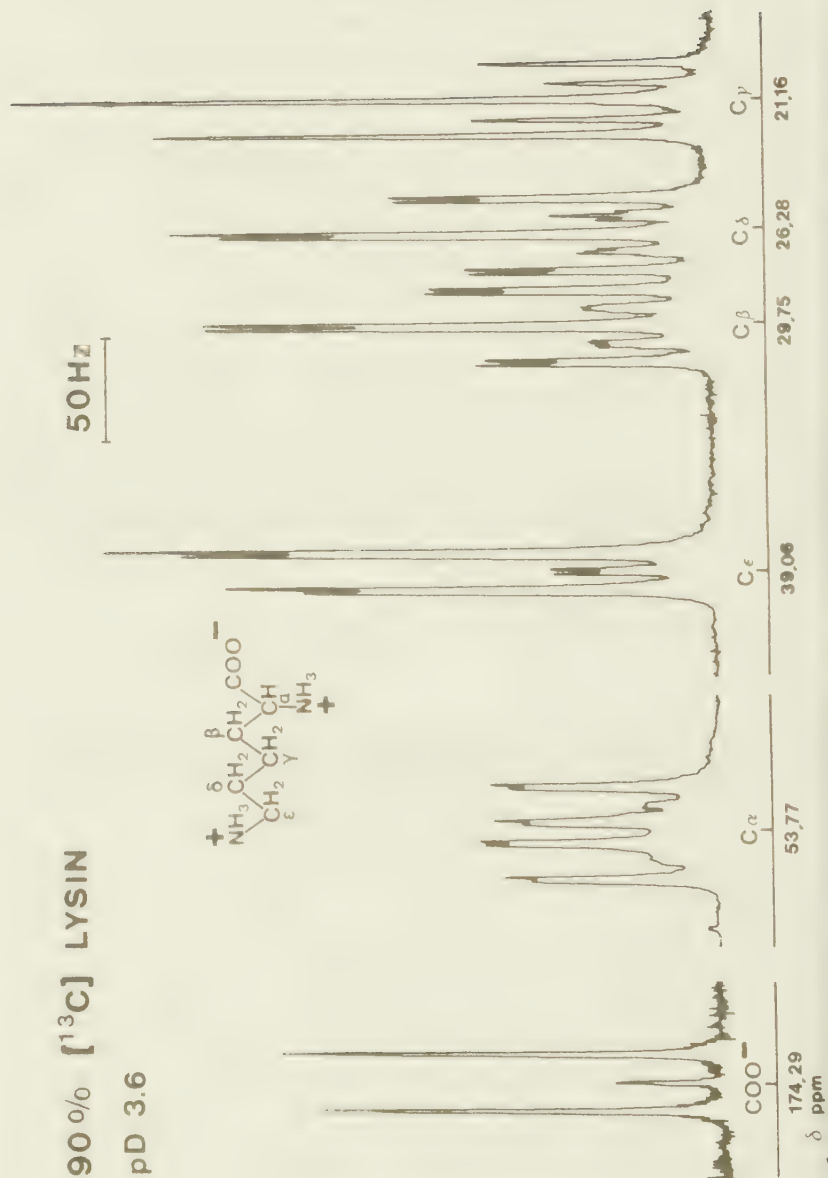
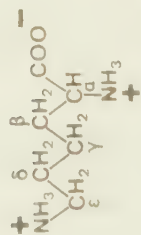


Gut geeignet zur Messung von C,C-Kopplungen sind in allen Positionen hochgradig markierte Verbindungen. (Figur 12, vgl. IV.2.)

Abb. 12: Breitbandkoppeltes ^{13}C -Spektrum von 90% ^{13}C -Lysin in D_2O ($\text{pD} = 3.6$, $T = 35^\circ\text{C}$)

90 % ^{13}C LYSIN

pD 3.6



III. Untersuchungen der $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskon-
stanten in Peptiden

Ausgangspunkt der vorliegenden Untersuchungen war die Feststellung, dass $^1J(C\alpha, H)$ in cyclischen Sarcosylpeptiden (cyclo(Sar)₂, cyclo(Sar)₄, cyclo(Sar)₈) von den Konformationen der Peptidfragmente (Φ, Ψ , vgl. Fig. 3) abhängig ist. Die Untersuchungen von $^1J(C\alpha, H)$ wurden in der Folge darauf ausgerichtet, die Kopplungskonstante in Peptiden mit empirischen Beziehungen beschreiben und berechnen zu können.

Temperatur- und Lösungsmittelleffekte auf $^1J(C\alpha, H)$ spielen eine eher untergeordnete Rolle. Von Bedeutung jedoch sind die Isotopeneffekte bei Messungen protonierbarer Aminosäuren und Peptide in D₂O. Sie werden in der Folge eingehend behandelt. An Aminosäuren, offenkettigen Di- und Tripeptiden (Glycin, Gly₂, Gly₃, Alanin, Ala₂, Ala₃, Sarcosin, Sar₂) wurde in D₂O die Abhängigkeit der $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten vom Säuregrad pD untersucht.

Es wurden Malinowski-Inkrementen { für die geladenen und die ladungsneutralen Substituenten an C(α) ermittelt. Die gefundenen Inkrementen erlauben die Berechnung von $^1J(C\alpha, H)$ in amino- resp. carboxylendständigen C(α)-Gruppen für die verschiedenen Protonierungszustände. Die $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten für eine Aminosäureeinheit innerhalb einer Peptidkette können ebenfalls mit den neu gefundenen Inkrementen berechnet werden. Die Fehlergrenze der nach der Additivitätsregel von Malinowski berechneten $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungen wurde mit maximal ± 1.5 Hz ermittelt. Die $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplung der mittleren Aminosäure in Tripeptiden wird vom Säuregrad nur schwach beeinflusst. Aufgrund der konformationellen Freiheit in kurzen offenkettigen Peptiden erscheint es einleuchtend, dass diese $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstante mit dem Konstitutionsbeitrag A in Beziehung gebracht werden kann (vgl. Gleichung (79)).

- 27 -

Das wesentliche Ziel der Untersuchungen stellt die Formulierung der Konformationsabhängigkeit von $^1J(C\alpha, H)$ in Peptiden dar. Anhand einer Reihe von cyclischen Di- und Tetrapeptiden gelingt es, die Abhängigkeit der $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten von den Torsionswinkel Φ und Ψ (resp. Φ' und Ψ') zu beschreiben. Die empirische Beziehung(77) wurde mit gutem Erfolg auf cyclische Di-, Hexa- und Octapeptide angewendet. (vgl. III.8.5.)

Tabelle 9: Faktoren, welche $^1J(C\alpha, H)$ beeinflussen.

Einflüsse	Variation von $^1J(C\alpha, H)$
Torsionswinkel	137 - 150 Hz
Protonierungs- grad	137 - 146 Hz. Einfluss wirkt hauptsächlich auf die endständigen Aminosäuren.
Temperatur	1. Direkt: vernachlässigbar 2. Indirekt: mehrere Hz in Protonierungsstufe.
Lösungsmittel	Je polarer das Lösungsmittel, desto größer wird die Kopplung. Bereich ca. 3 Hz.
Isotopieeffekte	mehrere Hz in Protonierungsstufe.

1. Spektrenanalyse

Sowohl in gekoppelten $^{13}C, H$ - als auch in $^{13}C, ^{13}C$ -Spektren können Effekte höherer Ordnung die direkte Ermittlung der Kopplungskonstanten aus dem Spektrum verunmöglichen. Es muss dann eine Spektrenanalyse für das betreffende Spinsystem durchgeführt werden.

1.1. Protonengekoppelte ^{13}C -Spektren

U. Vögeli¹² hat darauf hingewiesen, dass die ^{13}C X-Teile von Spinsystemen höherer Ordnung in vielen Fällen nicht nach 1. Ordnung interpretiert werden dürfen. Anhand des ABX-Spinsystems wurden die Bedingungen formuliert, für welche die direkte Messung der Kopplungskonstanten aus dem Spektrum erlaubt resp. nicht erlaubt ist.

Die Berechnung der Frequenzen und Intensitäten in einem ABX-Spinsystem kann zeitsparend auf einem programmierbaren Taschenrechner durchgeführt werden. (vgl. Anhang)

Um abzuklären, ob die $^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$ -Kopplungskonstanten in den untersuchten Aminosäuren und Peptiden zweifelsfrei nach 1. Ordnung entnommen werden können, wurde das ABX-Spinsystem der $^{13}\text{C}\alpha$ -Methylengruppe mit geeigneten Parametern durchgerechnet.

1.1.1. Der $^{13}\text{C}\alpha$ -X-Teil in Glycyl- und Sarcosylpeptiden.

Die Uebersicht verwendet, wo nicht anders vermerkt, die Nomenklatur von Bernstein, Pople und Schneider⁷¹ resp. von Abraham und Bernstein.⁷²

Die Uebersicht soll darüber Auskunft erteilen, welche Kopplungs-Information der $\text{C}\alpha$ -X-Teil eines ABX-Spektrums für die experimentell gefundenen Parametersätze $\text{J}(\text{A}, \text{B})$, $\delta(\text{A}, \text{B})$, $\text{L} = 1/2(\text{J}(\text{A}, \text{X}) - \text{J}(\text{B}, \text{X}))$ enthält.

Die Analyse der AB-Protonenspektren und der ^{13}C X-Teile der untersuchten Glycyl- und Sarcosylpeptide ergab folgenden Bereich für $\text{J}(\text{A}, \text{B})$, $\delta(\text{A}, \text{B})$ und L :

$\text{J}(\text{A}, \text{B})$	:	(-) 14-18 Hz
$\delta(\text{A}, \text{B})$	:	0-300 Hz
$\text{L} = 1/2(\text{J}(\text{A}, \text{X}) - \text{J}(\text{B}, \text{X}))$	:	0- 7 Hz

Bemerkenswert ist die grosse Variabilität von $\delta(A,B)$ und die Möglichkeit für $\delta(A,B) = 0$ oder/und $L = 0$. Das Erscheinungsbild der Spektren kann demzufolge für die Glycyl- und Sarcosylpeptide die in Darstellung 3 gezeigten Grenzfälle durchlaufen.

Darstellung 3: Spinsysteme in Abhängigkeit der Shiftdifferenz $\delta(A,B)$ und L .

<u>ABX</u> :	:	$ \delta(A,B) > 0$	$L = 0$
		$ \delta(A,B) > 0$	$L > 0$
<u>AA'X</u> :	:	$ \delta(A,B) = 0$	$L > 0$
<u>A₂X</u> :	:	$ \delta(A,B) = 0$	$L = 0$

Das im Anhang beschriebene Programm berechnet den Abstand vom Zentrum des X-Teils für die beiden in Frequenz und Intensität veränderlichen Linien. Das Linienpaar mit der Intensität 1 liegt im symmetrischen X-Teil konstant $(J(A,X) + J(B,X))$ Hz auseinander.

Aus Tabelle 10a ist ersichtlich, dass der Fehler bei der Ermittlung ähnlich grosser Kopplungskonstanten ($L=1\text{Hz}$) erst für $\delta(A,B) < 10$ Hz grösser wird als der Messfehler von ca. 0,5 Hz. Werden die beiden Kopplungskonstanten noch ähnlicher, so wird deren genaue Ermittlung aus dem Spektrum schwierig, weil Effekte höherer Ordnung (und die spektrale Auflösung) ein Triplett verursachen. Bezogen auf die untersuchten Glycyldiketopiperazine kann die Spektrenanalyse für $L=1$ Hz nach 1. Ordnung erfolgen, da stets $\delta(A,B) > 10$ Hz gefunden wird. In offenkettigen Peptiden, cyclo(Sar)₂ und in den cycloenantimeren Hexapeptiden

wird eine Shiftdifferenz $\delta(A,B) = 0$ gefunden. Die Auswertung des C α -X-Teils nach 1. Ordnung liefert hier lediglich die Summe von $J(A,X)$ und $J(B,X)$.

Tabelle 10b stellt eine analoge Rechnung für $L=6$ dar. Die Vergrößerung des Unterschieds zwischen den beiden Kopplungskonstanten lässt die für eine Analyse nach 1. Ordnung erlaubte minimale Shiftdifferenz auf ca. 40 Hz ansteigen. Im Falle der untersuchten cyclischen Peptide (cyclo(Gly-L-Pro)₂, cyclo(Gly-L-Pro)₃ und cyclo(Sar)₄), ist der Wert von $\delta(A,B)$ grösser als 40 Hz. Folglich kann auch hier der X-Teil nach den Regeln 1. Ordnung ausgewertet werden.

1.1.2. Offenkettige Peptide

Es wird nur eine einzige Protonenresonanz gemessen ($\delta(A,B)=0$). Das ¹H gekoppelte ¹³C-Spektrum erscheint als ein Triplett. Es kann aus dem Spektrum nur der Mittelwert der Kopplungen $J(A,X)$ und $J(B,X)$ ermittelt werden.

Tab. 10: Die berechneten Intensitäten und relative Frequenzen der von $\delta(A,B)$ abhängigen Linien im X-Teil eines ABX-Spinsystems.

a) Parameter : $J(A,B) = -17$ Hz, $J(A,X) = 140$ Hz, $J(B,X) = 142$ Hz, $\delta(A,B)$ variabel

Werte $\delta(A,B)$	Intensitäten	Frequenzen	Relative Frequenzen	Linien
Hz		Hz		Hz
0	0.997	0.000	0.003	17.029
10	0.998	0.507	0.002	19.742
20	0.999	0.762	0.001	26.257
30	1.000	0.870	0.000	34.485
40	1.000	0.920	0.000	43.464
50	1.000	0.947	0.000	52.812

b) Parameter : $J(A,B) = -17$ Hz, $J(A,X) = 138$ Hz, $J(B,X) = 150$ Hz, $\delta(A,B)$ variabel

Werte $\delta(A,B)$	Intensitäten	Frequenzen	Relative Frequenzen	Linien
Hz		Hz		Hz
0	0.889	0.000	0.111	18.028
10	0.933	2.940	0.067	20.405
20	0.977	5.880	0.033	22.847
30	0.992	5.201	0.008	34.811
40	0.997	5.514	0.003	43.527
50	0.999	5.677	0.001	52.847
60	0.999	5.771	0.001	62.383
70	1.000	5.829	0.000	72.049
80	1.000	5.868	0.000	81.796
90	1.000	5.895	0.000	91.598
100	1.000	5.915	0.000	101.440

$$(40) \quad \nu(A) = \nu(B) \rightarrow \delta(A,B) = 0$$

$$J(C\alpha, H) = 1/2 (J(A, X) + J(B, X))$$

Die Tabellen 10a,b zeigen, dass höchstens im Fall stark verschiedener Kopplungen $J(A, X)$ und $J(B, X)$ eine Kombinationslinie im X-Teil sichtbar wird. In keinem der untersuchten Peptide jedoch wurden Kombinationslinien gemessen. Dies genügt trotzdem nicht, um $J(A, X)$ und $J(B, X)$ einander gleichzusetzen, d.h. ein A_2X -Spinsystem anzunehmen. Der gelegentlich verwendete Begriff einer "rotationsgemittelten" Kopplung erscheint im Lichte dieser Spektrenanalyse falsch. Das Spektrum gibt unter den genannten Bedingungen tatsächlich nur den Mittelwert beider Kopplungen. Dennoch sind die Werte der "gemittelten" Kopplung für offenkettige Peptide sehr charakteristisch. (vgl. III.8.1.)

1.1.3. Symmetrische Diketopiperazine

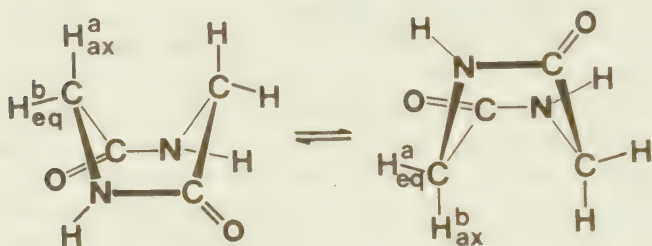
In den untersuchten Diketopiperazinen ($\text{cyclo}(\text{Sar})_2$, $\text{cyclo}(\text{Gly})_2$) wird Variante (40) abgewandelt.

Aufgrund der Molekülsymmetrie kann geschlossen werden, dass die beiden Kopplungen identisch oder konformationell gemittelt sind. In einem für die NMR-Zeitskala raschen Gleichgewicht wandelt sich die pseudoaxiale Lage der $C\alpha, H$ -Bindung in eine pseudoäquatoriale Lage um. (Figur 13) Für die Kopplungen gilt dann Variante (41).

$$(41) \quad J(A, X) = J(B, X) = 1/2 (J_{ax} + J_{eq})$$

Für planare Diketopiperazine würde man ebenfalls ein Triplett finden. Die Unterscheidung zwischen planarem Diketopiperazining und einem Konformationsgleichgewicht für die Ringe kann z.T. aufgrund der gemessenen $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten erfolgen.

Figur 13: Konformationsgleichgewicht in symmetrischen Diketo-piperazinen



1.1.4. Unsymmetrische Diketopiperazine mit diastereotopen α -Protonen

Für X-Teile 1. Ordnung gilt: (Tabelle 10)

$$(42) \quad \nu(A) \neq \nu(B) \rightarrow |\delta(A,B)| > 50 \text{ Hz}$$

Es wurden in Abhängigkeit von der Beweglichkeit der Methylen-gruppe, d.h. der Starrheit des Diketopiperazinrings zwei Varianten (43a,b) von $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungen festgestellt.

$$(43a) \quad J(A,X) = J(B,X) = 1/2(J(ax) + J(eq))$$

Die konformationelle Ausmittlung gelingt nur in genügend flexiblen Ringen (cyclo(Gly-L-Leu), cyclo(Gly-L-Ser), cyclo(Gly-L-Thr)). Die obengenannten Kriterien treffen ebenfalls für planare Diketopiperazine zu.

$$(43b) \quad J(A,X) \neq J(B,X)$$

In diese Kategorie fallen die untersuchten cyclo-Dipeptide cyclo(Gly-L-Phe), cyclo(Gly-L-Tyr) und cyclo(Gly-L-Pro).

1.1.5. Grössere cyclische Peptide

Mit Hilfe der Protonen- und protonengekoppelten ^{13}C -Spektren kann die "Ordnung" des X-Teils festgelegt werden. Es kann dann auf eine der vorgängig beschriebenen Varianten zurückgegriffen werden.

2. Lösungsmittelabhängigkeit von $^1\text{J}(\text{C},\text{H})$ -Kopplungen

Aus den Arbeiten von Lichter und Roberts⁷³ ist bekannt, dass die $^1\text{J}(\text{C},\text{H})$ -Kopplungskonstante von Chloroform beträchtlich vom Lösungsmittel abhängig ist. Tabelle 11 fasst diese Feststellung zusammen.

Tabelle 11: $^1\text{J}(\text{C},\text{H})$ von CHCl_3 in verschiedenen Lösungsmitteln.³¹

Lösungsmittel	$^1\text{J}(\text{C},\text{H})$ Hz
C_6H_{12}	208.1
CCl_4	208.4
CHCl_3	209.5
C_6H_6	210.6
Et_2O	213.7
MeOH	213.7
Aceton	215.2
DMF	217.4

Aus der Tabelle 12 kann eine durch weitere Effekte überdeckte Abhängigkeit von $^1J(C,H)$ von der Polarität des Lösungsmittels erahnt werden.

Die Lösungsmittelabhängigkeit der $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstanten ist jedoch nicht gut erforscht. Die theoretische Interpretation wird durch die Komplexität der experimentell schwer zugänglichen Wechselwirkungen zwischen Substrat und Solvens erschwert.³¹

Um einen Ueberblick über die Lösungsmittelabhängigkeit von $^1J(C,H)$ in Peptiden zu erhalten, wurden Sarcosin- und Alaninaethylesterhydrochlorid in den für Peptide gebräuchlichen Lösungsmitteln $CDCl_3$, CD_3OD , d_6 -DMSO und D_2O gemessen. (Tabelle 12)

Tabelle 12: $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstanten [± 0.3 Hz] in Alanin- und Sarcosinäthylesterhydrochlorid in den Lösungsmitteln $CDCl_3$, CD_3OD , d_6 -DMSO, D_2O .

SarOEt-HCl:

Lösungsmittel	CH_3	CH_2	NCH_3	NCH_2
$CDCl_3$	127.5	148.8	143.2	144.6
CD_3OD	127.2	149.1	143.7	145.7
d_6 -DMSO	127.1	148.9	142.8	144.7
D_2O	127.6	149.8	144.1	146.0

AlaOEt HCl:

Lösungsmittel	CH_3	CH_2	$CH_3(\beta)$	$CH(\alpha)$
$CDCl_3$	127.4	148.7	131.2	146.3
CD_3OD	127.2	148.9	130.7	146.4
d_6 -DMSO	127.2	148.9	130.5	145.8
D_2O	127.6	149.9	131.1	147.6

Die Lösungsmittel in Tabelle 12 sind nach zunehmender Dielektrizitätskonstanten geordnet. ($\epsilon^{20}(\text{CHCl}_3) = 4.81$, $\epsilon^{25}(\text{CH}_3\text{OH}) = 32.6$, $\epsilon(\text{DMSO}) = 45$, $\epsilon^{20}(\text{D}_2\text{O}) = 80.37$)

Auffallend sind die durchwegs um 0.5-2 Hz höheren Kopplungen in wässrigen Lösungen. Die Kopplungskonstanten, welche in nichtwässrigen Lösungsmitteln gemessen wurden, variieren trotz erheblichen Polaritätsunterschieden nur schwach.

3. Isotopieeffekte beim Wechsel von H_2O auf D_2O

Infolge des Austausches der Carboxyl- und der Aminoprotone gegen Deuterium, werden in Aminosäuren und Peptiden veränderte chemische Verschiebungen und Kopplungskonstanten gemessen. Der erwähnte Isotopieeffekt kann in zwei Komponenten aufgeteilt werden.

1. Isotopieeffekt auf pK_s : Dieser Effekt wirkt in Aminosäuren und Peptiden auf die chemischen Verschiebungen und die Kopplungskonstanten.
2. Isotopieshift: Dieser Effekt wirkt sich in messbarem Ausmass nur auf die chemischen Verschiebungen aus. Eine Ausnahme bildet die kürzlich gemessene Kopplung zwischen Selen und Wasserstoff resp. Deuterium.⁷⁴

3.1. Der pD -Wert von D_2O -Lösungen

Die meisten FT-NMR-Spektrometer sind für die Feld-Frequenzstabilisierung mit einem Deuteriumlock ausgestattet. Deshalb werden als interne Locksubstanzen deuterierte Lösungsmittel verwendet. Anstelle von H_2O wird folglich D_2O eingesetzt. In der Protonen-Kernresonanz wird D_2O zusätzlich dazu eingesetzt, um das Wassersignal zu verkleinern.

Protonierbare Verbindungen ergeben pH- resp. pD-abhängige NMR-Spektren. Damit stellen sich für Experimente in D_2O die Fragen nach der Definition des pD-Wertes und nach den Möglichkeiten denselben zu messen.

Nach Glasoe und Long⁷⁵ bedeutet der pD-Wert für eine Lösung in reinem D_2O dasselbe wie der pH für eine Lösung in H_2O . Der pD-Wert wird analog zum pH als

$$(44) \quad pD = -\log (\text{Aktivität der } D_3O^+)$$

definiert. Einen weiteren experimentellen Beweis für die Richtigkeit dieser Definition lieferten Högfeldt und Bigeleisen⁷⁶ aufgrund der von Hammett und Deyrup⁷⁷ erdachten Indikatorsäurefunktion H_o . Letztere bietet einen Weg an, um für konzentriertere Lösungen in H_2O und z.T. auch nichtwässrige Lösungsmittel einen Säuregrad zu definieren.

$$(45) \quad H_o = pK (\text{Ind-H}^+) - \log (c(\text{Ind-H}^+)/c(\text{Ind}))$$

In der Gleichung bedeuten $c(\text{Ind-H}^+)/c(\text{Ind})$ das direkt beobachtbare Konzentrationsverhältnis des Indikators in seinen zwei verschieden gefärbten Formen und $K (\text{Ind-H}^+)$ die thermodynamische Dissoziationskonstante K_s der konjugierten Säure des Indikators bezogen auf ideale Verdünnung in H_2O .

Högfeldt und Bigeleisen dehnten den Anwendungsbereich der Säurefunktion H_o auf das Lösungsmittel D_2O aus. Entsprechend H_o definierten sie eine Säurefunktion D_o in D_2O . Für starke, vollständig dissoziierte Säuren wurde ermittelt, dass Uebereinstimmung zwischen D_o und H_o besteht. Zudem wurde für Konzentrationen $c = 10^{-4} - 1$ m gefunden, dass:

$$D_o = -\log c(D^+) \quad \text{resp.} \quad H_o = -\log c(H^+)$$

In ideal verdünnten Lösungen gilt demzufolge:

$$\text{In } D_2O: \quad D_o = -\log (\text{Aktivität } D^+) = pD$$

$$\text{In } H_2O: \quad H_o = -\log (\text{Aktivität } H^+) = pH$$

Für eine vollständig in Wasser dissoziierte starke Säure ist:

$$(46) \quad pH (\text{ in } H_2O) = pD (\text{ in } D_2O)$$

Es muss beachtet werden, dass die Dissoziationskonstante K_s von Säuren und Basen einem Isotopieeffekt unterliegen, der in der Folge eingehender betrachtet werden soll.

Der Säuregrad einer D_2O -Lösung lässt sich über den gesamten pD-Bereich mittels einer Glaselektrode bestimmen. Für den Fall, dass ein pH-Meter mit in H_2O gelösten Puffern geeicht wurde, können pD-Werte aus der Anzeige des pH-Meters mit der folgenden experimentell gefundenen Beziehung ermittelt werden:⁷⁵

$$(47) \quad pD = pH (\text{Anzeige pH-Meter}) + 0.4$$

3.2. Der Isotopieeffekt auf K_s in D_2O

Die experimentellen K_s -Werte von schwachen Säuren in D_2O sind im Mittel um 0.1 - 0.6 pK_s -Einheiten grösser als die analogen Dissoziationskonstanten in H_2O .^{75,78-81}

Die theoretische Interpretation von ΔpK_s ist nicht trivial. Sie basiert auf der gegenüber der protonierten Verbindung erniedrigten Nullpunkts-Vibrationsenergie der deuterierten Bindung.

3.2.1. Experimentelle Erfahrungen

Der Unterschied zwischen $K_S(H)$ und $K_S(D)$ ist einerseits eine Funktion der $pK_S(H)$ -Werte, hängt aber auch vom Typ der Säure ab (79).

In Tabelle 13 sind $pK_S(H)$, $pK_S(D)$ und $\Delta pK_S = pK_S(D) - pK_S(H)$ für einige willkürlich ausgewählte Säuren aufgeführt.

Tabelle 13: Dissoziationskonstanten einiger Säuren in D_2O und H_2O .

Säure	$pK_S(H)$	$pK_S(D)$	ΔpK_S	Ref.
Hydrochinon	10.58	-	0.62	79
HCO_3^-	10.33	10.96	0.63	75
$H_2PO_4^-$	7.19	-	0.56	79
Essigsäure	4.73	5.25	0.52	75, 78, 79
Benzoesäure	4.22	-	0.50	79
Chloressigsäure	2.77	3.20	0.43	78
H_3PO_4	2.11	2.31	0.20	78
H_3O^+	-1.74	-1.74	0.00	79

3.2.2. Theoretische Aspekte

Der thermodynamische Isotopieeffekt, d.h. der Einfluss der Isotopensubstitution von H gegen D auf ein Säure-Base-Gleichgewicht, kann aus dem kinetischen Isotopieeffekt $k(H)/k(D)$ hergeleitet werden.

Gleichung (48) zeigt den Zusammenhang zwischen dem aus den Gleichgewichtskonstanten $K(H)$ und $K(D)$ zu ermittelnden

thermodynamischen Isotopieeffekt $K(H)/K(D)$ und dem kinetischen Isotopieeffekt $k_1(H)/k_1(D)$ für die Hinreaktion und $k_{-1}(H)/k_{-1}(D)$ für die Rückreaktion.

$$(48) \quad \frac{K(H)}{K(D)} = \frac{k_1(H)}{k_1(D)} \frac{k_{-1}(D)}{k_{-1}(H)}$$

In einem Säure-Base-Gleichgewicht ist nur der thermodynamische Isotopieeffekt messbar. Laut Gleichung (48) ist dann ein thermodynamischer Isotopieeffekt $K(H)/K(D) \neq 1$ zu erwarten, wenn die kinetischen Isotopieeffekte für die Hin- und Rückreaktion nicht gleich gross sind.^{82,83}

Lewis und Schutz⁷⁸ gehen davon aus, dass die Potentialkurven protonierter und deuterierter Säuren sehr ähnlich sind. Der wichtigste Unterschied zwischen protonierter und deuterierter Säure HA und DA besteht in den unterschiedlichen Nullpunkts-Vibrationsenergien. Die A-D-Bindung besitzt eine tiefere Nullpunktsenergie als A-H.

$$(49a) \quad E_{\text{vib}}^0(H) = 1/2 \sqrt{f / \mu(H)} \quad (49b) \quad E_{\text{vib}}^0(D) = 1/2 \sqrt{f / \mu(D)}$$

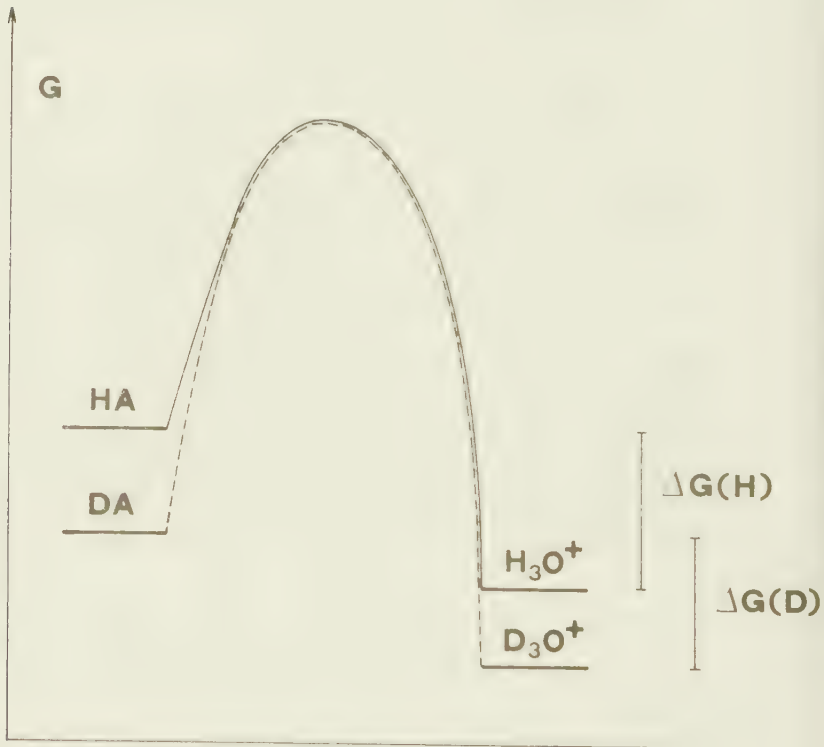
$\mu(H)$, $\mu(D)$ sind reduzierte Massen

Für ein Säure-Base-Gleichgewicht in H_2O folgt:

$$(50) \quad \Delta G(H) - \Delta G(D) = -RT \ln(K(H)/K(D))$$

$\Delta G(H) - \Delta G(D)$ ist nicht Null, weil die Säuren HA, DA und H_3O^+ resp. D_3O^+ unterschiedliche Kraftkonstanten für die Nullpunktsenergie besitzen. In Figur 14 wird der energetische Verlauf einer Säure-Base-Reaktion in H_2O mit der analogen Reaktion in D_2O verglichen.

Figur 14: Reaktionsdiagramm einer Säure-Base-Reaktion in H_2O (—) und D_2O (-----).



H_3O^+ resp. D_3O^+ haben als die stärksten Säuren im Lösungsmittel Wasser die kleinsten Kraftkonstanten $f(\text{H}_3\text{O}^+)$ und $f(\text{D}_3\text{O}^+)$. Jede andere Säure in Wasser mit $-1.74 < \text{p}K_{\text{S}} < 15.26$ besitzt zwischen protonierter und deuterierter Form, HA bzw. DA , grössere Unterschiede in der freien Energie ΔG als $\Delta G(\text{H}_3\text{O}^+) - \Delta G(\text{D}_3\text{O}^+)$. Daher sind für deuterierte schwache Säuren positive Isotopieeffekte auf $\text{p}K(\text{D})$ zu erwarten.

$$(51) \quad - \log K(D) + \log K(H) > 0$$

Mit zunehmendem pK_s einer schwachen Säure nimmt die Kraftkonstante f und damit $\Delta G(HA) - \Delta G(DA)$ zu und bewirkt eine Vergrößerung des Isotopieeffektes auf K_s .

Der Zusammenhang zwischen dem thermodynamischen Isotopieeffekt und der Dissoziationskonstante einer Säure in H_2O (Tabelle 13) lässt sich nicht durch eine allgemeingültige physikalische Beziehung ausdrücken. Der Grund dafür liegt in der Abhängigkeit des thermodynamischen Isotopieeffekts vom Säuretyp.

3.2.3. Isotopeneffekt auf ^{13}C chemische Verschiebungen

Zusätzlich zum Isotopieeffekt der Deuterierung auf K_s tritt in den NMR-Spektren ein Isotopieshift $\Delta\delta(H,D) = \delta(X-H) - \delta(X-D)$ in Erscheinung. Primäre Isotopieshifts von H , D und T -Kernen sind gewöhnlich klein und kaum messbar.⁸⁴ Sekundäre Isotopieshifts auf ^{13}C und ^{19}F verursacht durch H/D -Substitution sind jedoch bedeutend.⁸⁵⁻⁸⁷

Für die ^{13}C Resonanzen von Aminosäuren und Peptiden werden für Anion, Zwitterion und Kation in D_2O und H_2O verschiedene chemische Verschiebungen gemessen.⁸¹ Bemerkenswert ist dabei, dass sich für die Isotopieshifts in Kation und Anion das Vorzeichen ändert.

Aus theoretischen Behandlungen der Isotopenshifts von Saika und Narumi⁸⁸ geht hervor, dass der Hauptbeitrag des Isotopenshifts aus den kleinen Unterschieden zwischen den mittleren Bindungslängen in den protonierten und deuterierten Molekülen stammen. Die leicht verschiedenen Bindungslängen sind auf die unterschiedlichen Nullpunkts-Vibrationsenergien zurückzuführen.

3.2.4. Isotopeneffekte auf $^1J(\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten

Aus Gleichung (24) ist ersichtlich, dass eine Isotopen-substitution dann einen Einfluss auf die Kopplungskonstante ausübt, wenn die Gesamtwellenfunktion Ψ^{el} in den beiden Isotopomeren verschieden ist. Primäre Isotopieeffekte lassen sich zahlenmässig erfassen, indem entsprechend dem Verhältnis der gyromagnetischen Konstanten $\gamma_N \cdot \gamma_N$, die Kopplung des einen Isotopomers umgerechnet wird. Sekundäre Isotopieeffekte können, da die Kopplungspartner nicht substituiert wurden, direkt ermittelt werden.

Für die schrittweise Deuterierung von H_2Se zu $HDSe$ und D_2Se wurden extrem starke Isotopieshifts auf $\delta(Se)$ festgestellt. Für Kopplungskonstanten wurden primäre Isotopieeffekte von +1.65 Hz und sekundäre Isotopieeffekte von 0.9 Hz gemessen.⁷⁴

Der Einfluss einer Isotopensubstitution auf $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungen in Peptiden konnte anhand der mono- und dideuterierten $C\alpha$ -Methylengruppen in Cyclodisarcosyl untersucht werden.

Allfällige Isotopeneffekte auf C, H -Kopplungen in $cyclo(Sar)_2$ sind entsprechend Tabelle 14 innerhalb der Fehlergrenzen nicht nachzuweisen.

Tabelle 14: Untersuchung der Isotopieeffekte auf die $^1J(C\alpha, H)$ und $^1J(C\alpha, D)$ -Kopplungskonstanten in $cyclo(Sar)_2$

	$^1J(C, H)$	$^1J(C, D)$	$^1J(C, H) * \frac{\gamma_H}{\gamma_D} = ^1J(C, D)$
CH_2	143.7 ± 0.1		
CHD	143.8 ± 0.1	22.0 ± 0.1	143.3 ± 0.7
CD_2		22.2 ± 0.2	144.6 ± 1.3

Der Isotopieeffekt auf $^1J(C\alpha, H)$ beim Uebergang von H_2O nach D_2O ist ebenfalls nicht nachweisbar. Messungen von $^1J(C\alpha, H)$ in H_2O ergaben für die Zwitterionen von Glycin, Sarcosin und Alanin $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten von 143.7 ± 0.3 , 143.2 ± 0.3 und 145.0 ± 0.3 Hz. In D_2O betragen die entsprechenden Kopplungskonstanten 143.7 ± 0.5 , 143.7 ± 0.35 und 145.1 ± 0.3 Hz.

4. Temperatureffekte

Die Temperaturabhängigkeit von NMR Messgrößen kann verschiedene Ursachen haben.

Es müssen direkte und indirekte Temperatureffekte unterschieden werden.

4.1. Direkte Temperatureffekte

Von einem direkten Temperatureinfluss soll dann gesprochen werden, wenn der NMR Parameter eine abhängige Variable der Messtemperatur darstellt.

$$\delta, J : f(T)$$

Laszlo⁸⁹ unterscheidet in diesem Zusammenhang intermolekulare und intramolekulare Einflüsse auf tiefliegende Vibrationszustände der Moleküle. Die intermolekularen Phänomene werden als temperaturabhängige Lösungsmittelleffekte (Assoziationsphänomene) gedeutet. Die getrennte experimentelle Beobachtung des inter- und intramolekularen Effekts auf 1J ist jedoch kaum möglich. Die direkten Temperatureffekte sowohl auf Kopplungskonstanten als auch auf die ^{13}C chemischen Verschiebungen sind gering. Für die Temperaturabhängigkeit von ^{13}C chemischen Verschiebungen werden zum Beispiel folgende Temperaturkoeffizienten angegeben

b.r..

Cyclohexan	0.003 ppm/°K
Methyliodid	-0.02 ppm/°K

Für Acetonitril wurde eine Temperaturabhängigkeit der $^1\text{J}(\text{C},\text{H})$ -Kopplungskonstanten von $-(0.97 \pm 0.35) 10^{-3} \text{ Hz}/^\circ\text{K}$ gefunden.²⁵ Weitere Messungen der Temperaturabhängigkeit der $^1\text{J}(\text{C},\text{H})$ -Kopplungskonstanten in CHCl_3 , $\text{CHCl}_2\text{CHCl}_2$, $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$, CH_3CN , $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$ und $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$ stammen von Laszlo.⁸⁹

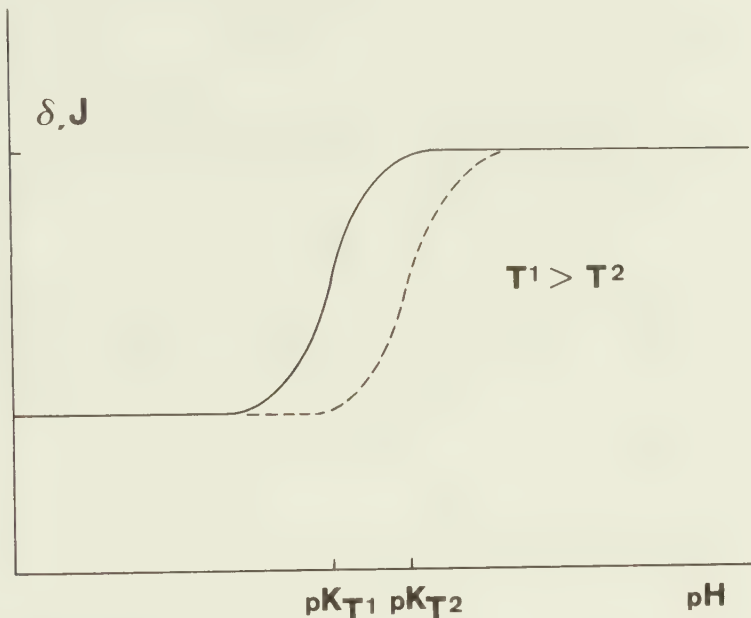
4.2. Indirekte Temperatureffekte

Indirekte Temperatureffekte beziehen sich auf temperaturabhängige chemische Gleichgewichte. Der NMR Parameter wird dabei über eine Gleichgewichtskonstante $K = \text{Fkt}(T)$ temperaturabhängig.

$$\delta, J : \text{Fkt}(K(T))$$

Die oben erwähnte Temperaturabhängigkeit von Gleichgewichtskonstanten wirkt sich im Bereich des "schnellen Austausches" auf die ^{13}C chemischen Verschiebungen und auf Kopplungskonstanten aus. In Figur 15 sind die Verhältnisse für die Temperaturabhängigkeit der NMR Parameter in einem Säure-Base-Gleichgewicht dargestellt.

Figur 15: Indirekter Temperatureffekt auf δ, J für ein Säure-Base-Gleichgewicht.



Analoges gilt auch für Konformationsgleichgewichte.

4.2.1. Die Temperaturabhängigkeit des pK_s -Wertes

Zwischen der Gibbs'schen freien Energie ΔG und der Gleichgewichtskonstanten K des betrachteten Gleichgewichtes besteht die Beziehung (52).

$$(52) \quad \Delta G = -RT \ln K$$

Für die Säurekonstante K_s lässt sich eine analoge Gleichung

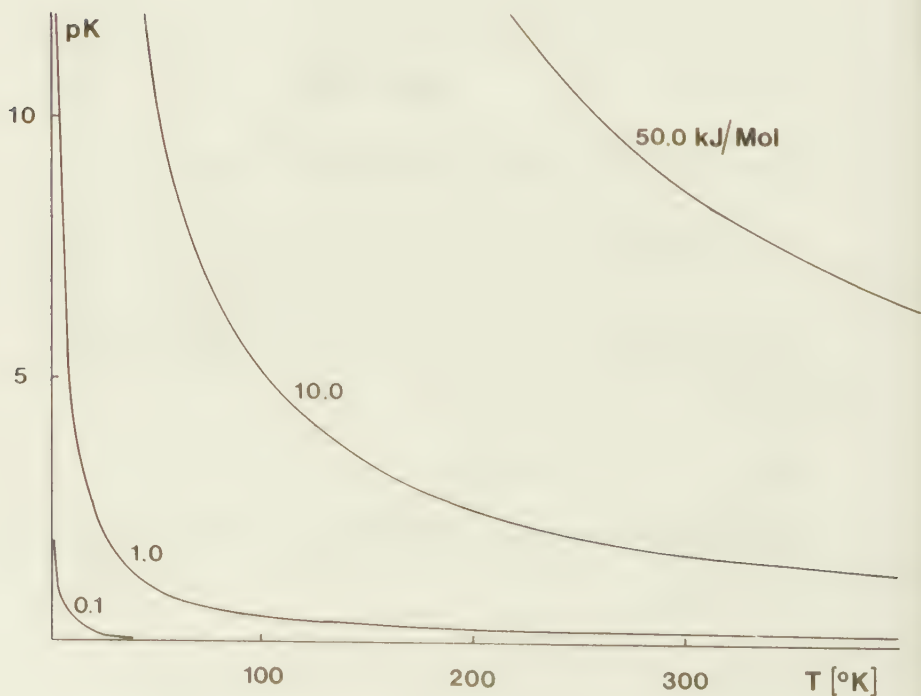
chung formulieren:

$$(53) \quad \Delta G(pK_S) = + 2.303 RT pK_S$$

$\Delta G(pK_S)$ ist dabei der Anteil der gesamten freien Energiedifferenz ΔG , der auf K_S zurückgeführt werden kann. Durch Umformung von (53) gelangt man zur nach pK_S aufgelösten Gleichung (54).

$$(54) \quad pK_S = 0.052 \frac{\Delta G(pK_S)}{T (^{\circ}K)}$$

Figur 16: Temperaturabhängigkeit eines idealisierten chemischen Gleichgewichtes für $\Delta G = 0.1, 1.0, 10.0, 50.0$ kJ/Mol.



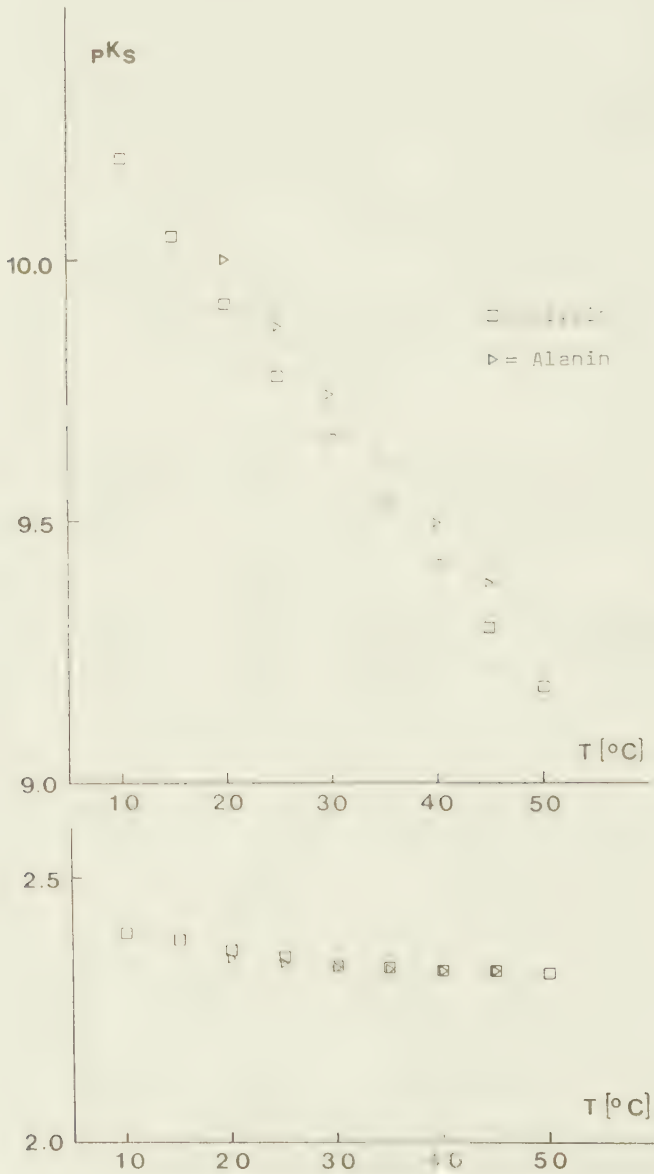
Aus Figur 16 ist ersichtlich, dass sich die pK_s -Werte in wässriger Lösung ($T = 280 - 370^\circ K$) näherungsweise durch eine lineare Beziehung (55) ausdrücken lassen. Im Bereich von $300^\circ C$ erhält ein typischer linearer Korrelationskoeffizient für ein Intervall von 25° den Wert von 0.9998. Ein Vergleich von theoretischen (Gleichung (55)) mit experimentellen pK_s -Werten bei verschiedenen Temperaturen ist in Tabelle 15 und Figur 17 dargestellt.

$$(55) \quad pK_s(T) = m T (^\circ C) + pK_s(\text{bei } 0^\circ C)$$

Tabelle 15: Experimentelle⁵¹ und berechnete Steigung m und Korrelationskoeffizienten für die lineare Näherung mit Gleichung (55)

		Steigung		Korrelationskoeffizient	
		$m(\text{exp.})$	$m(\text{theor.})$	$k(\text{exp.})$	$k(\text{theor.})$
<u>Gly</u>					
pK_1	2.3503	-0.0019	-0.0074	0.961	0.9998
pK_2	9.7796	-0.025	-0.031	0.9991	0.9998
<u>Gly₂</u>					
pK_1	3.33	-0.016	-0.010	-	0.9998
pK_2	8.27	-0.026	-0.026	0.997	0.9998
<u>Ala</u>					
pK_1	2.340	-0.0011	-0.007	0.962	0.9998
pK_2	9.870	-0.025	-0.031	0.9996	0.9998
<u>Ala</u>					
pK_1	3.12	-0.0033	-0.01	0.966	0.9998
pK_2	8.30	-0.024	-0.026	0.9997	0.9998

Figur 17: Experimentelle pK_s Werte von Glycin und Alanin in Abhängigkeit von der Temperatur.⁹¹



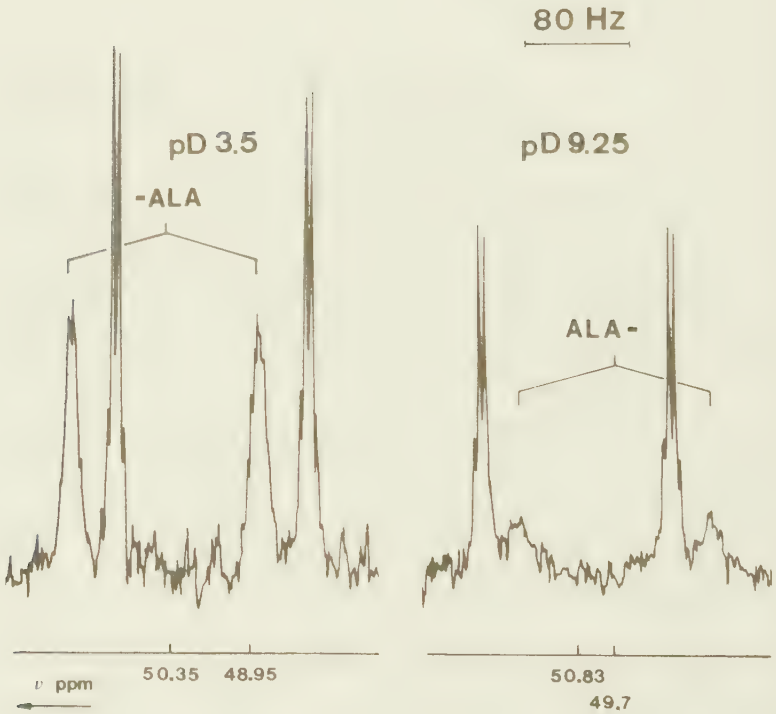
Die Beziehung (55) wurde für die Titrationsexperimente (vgl. III.7.) zur Umrechnung der $pD(T^1)$ -Werte auf die Messtemperatur T^2 im NMR-Spektrometer verwendet. (T^1 = Temperatur für pD -Messung) Die experimentellen pK_s -Werte für Temperaturen zwischen 0 und $50^\circ C$ stammen aus der Literatur.⁹¹ Aus diesen Werten wurde die experimentelle Steigung m (Tabelle 15) und pK_s (bei $0^\circ C$) für die betrachtete Protonierungsstufe berechnet. Für Ala_3 und die Sarcosyl-peptide wurden die Bedingungen $T^1 = T^2 = 35$, resp. $40^\circ C$ durch Messung der pD -Werte im Wasserbad eingehalten, weil die zur Umrechnung erforderlichen experimentellen Werte fehlten.

5. Der Einfluss paramagnetischer Ionen auf NMR Titrationsexperimente

Bei der Zubereitung der wässrigen Peptidlösungen für die NMR Titrationsexperimente gelangen genügend Metallionen in die Lösung, welche Linienverbreiterungen verursachen. Diese Erscheinung ist im Bereich der pK_s -Werte besonders ausgeprägt und störend. Die paramagnetische Linienverbreiterung ist in der Nähe des pK_s -Wertes der Aminogruppe stärker als für die Protonierungsstufe der Carboxylgruppe. Oftmals wird durch die erwähnte Linienverbreiterung die Messung der chemischen Verschiebungen und der Kopplungskonstanten fehlerhaft oder gar unmöglich. Figur 18 zeigt die Linienverbreiterung für die Ca, H -Signale in Nachbarschaft zur Carboxyl- resp. Aminogruppe bei den entsprechenden pD -Werten anhand des Dipeptids Alanylalanin.

Figur 1: Linienverbreiterung der ^1H gekoppelten $^{13}\text{C}_\alpha$ -NMR Signale von Ala_2 durch paramagnetische Ionen

ALANYLALANIN $[\text{C}_\alpha]$



Durch Behandeln der Peptidlösung mit Ionentauschern⁹² und durch Zugabe des Liganden EDTA können die Metallionen aus der Lösung entfernt respektive unwirksam gemacht werden. Die Zugabe von geringen Mengen EDTA verändert die pK_s -Werte der Säure nicht in messbarem Mass. In Tabelle 16 sind die gemessenen pK_s -Werte aus den NMR-Titrationskurven für Sarcosin mit und ohne EDTA dargestellt. (vgl. III.7.)

Tabelle 16: Einfluss von EDTA auf pK_s -Werte in Sarcosin (1.0 mg EDTA / 5 ml D_2O)

Sarcosin	pK_s^1 (40°C)	pK_s^2 (40°C)
mit EDTA	2.20 ± 0.06	10.51 ± 0.02
ohne EDTA	2.24 ± 0.62	10.50 ± 0.11

6. Die Bestimmung der Säurekonstanten K_s mit NMR

Protonen- und ^{13}C -NMR spektroskopische Untersuchungen wurden zur genauen Vermessung von Titrationskurven und zur Bestimmung von pK_s -Werten in Aminosäuren und Peptiden ausgenutzt.^{93,94}

Die Bestimmung von Säurekonstanten in überlappenden gemischten Säure-Base-Gleichgewichten gelingt mit titrimetrischen, konduktometrischen und potentiometrischen Methoden nicht.⁹⁵ Da aber auf der einen Seite die Kenntnis der Dissoziationsgleichgewichte von Peptiden zum Verständnis biochemischer Reaktionen bedeutungsvoll ist und andererseits

Titrationsshifts auf ^1H - und ^{13}C -Signale wertvolle Hinweise für die Strukturaufklärung geben, ist der recht grosse Aufwand für pH-abhängige NMR-Messungen sicher gerechtfertigt.^{92,95-97}

Die Protonenresonanz bietet sich als schnelles Verfahren an. Leider wird jedoch das Verfolgen eines Signals in Abhängigkeit vom pH oft durch Signalüberlappungen und schwer analysierbare Spinsysteme erschwert oder verunmöglicht.⁹⁶ Die Messung von ^{13}C -chemischen Verschiebungen kann dieses Problem auf adäquate Weise lösen und erlaubt auch die Beobachtung quartärer Kohlenstoffe (z.B. Carbonyl-C in Amiden). Messungen von $^1\text{J}(\text{C},\text{H})$ -Kopplungskonstanten in Abhängigkeit von pD wurden bisher selten und ungenau durchgeführt.⁹⁸ Die modernen hochempfindlichen FT-NMR Spektrometer mit grossen Probenvolumina machen Titrationsexperimente für $^1\text{J}(\text{C},\text{H})$ attraktiver.

6.1. Einfache Säure-Base Gleichgewichte

Für einprotonige Säuren lässt sich ein einfaches Modell zur Beschreibung der Säurekonstanten verwenden.⁹⁹ Die beobachtete NMR-Messgrösse $A(\text{obs})$ bezieht sich nur auf die Protonierungsstufe ΔA der einzigen Säurefunktion.¹⁰⁰ In diesem Fall wird die pD-Abhängigkeit von $A(\text{obs})$ durch die Henderson-Hasselbalch Gleichung (56) beschrieben.

$$(56) \quad A(\text{obs}) = A(0) + \Delta A / 1 + 10^{\text{pH} - \text{pK}_s}$$

6.2. Mehrprotonige Säuren

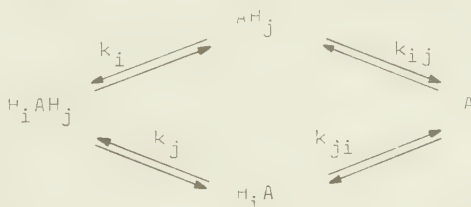
$(\text{pK}_s^1 - \text{pK}_s^2) > 3$: Bei einem genügend grossen Unterschied der pK_s -Werte setzt sich die NMR-Messgrösse einer gegebenen Resonanz additiv aus den beiden gut getrennten Protonierungs-

stufen zusammen. $A(\text{obs})$ kann in solchen Fällen als Summe der Henderson-Hasselbalch Gleichungen für separate Säurefunktionen erhalten werden. Da die genannte Bedingung für die in Kapitel III.7. beschriebenen Titrationsexperimente an Aminosäuren und Peptiden gut erfüllt ist, wurde zur Auswertung der Messdaten Gleichung (57) angewendet. (vgl. Figuren 19-26)

$$(57) \quad A(\text{obs}) = A(0) + \sum_i \Delta A_i / 1 + 10^{\text{pH} - \text{pK}_s(i)}$$

Für $\text{pK}_s^1 - \text{pK}_s^2 < 3$ muss ein genaueres Modell die Ueberlappung der beiden Dissoziationsgleichgewichte besonders berücksichtigen.

$\text{pK}_s^1 - \text{pK}_s^2 < 3$: Das Modell für mehrprotonige Säuren mit nahe beisammenliegenden Dissoziationskonstanten geht von folgendem Protonierungsschema aus:¹⁰⁰



Dabei werden die einzelnen "kleinen" Gleichgewichte k_i , k_{ij} , k_j und k_{ji} durch Mikrokonstanten beschrieben:

$$\begin{aligned}
 (58) \quad k_i &= a(\text{H}^+) (\text{AH}_j) / (\text{H}_i \text{AH}_j) & k_{ij} &= a(\text{H}^+) (\text{A}) / (\text{AH}_j) \\
 k_j &= a(\text{H}^+) (\text{H}_i \text{A}) / (\text{H}_i \text{AH}_j) & k_{ji} &= a(\text{H}^+) (\text{A}) / (\text{H}_i \text{A})
 \end{aligned}$$

Die Makrokonstanten K_1 und K_2 lassen sich folgendermassen ausdrücken:

$$(59a) \quad K_1 = k_i + k_j$$

$$(59b) \quad K_2 = k_{ij} k_{ji} / (k_{ij} + k_{ji})$$

Wenn eine mehrprotonige Säure eine Resonanz besitzt, deren chemische Verschiebung vom Dissoziationsgrad beider Säuregruppen abhängt, spricht man von einer "gemeinsamen Resonanz" (common resonance). Die beobachtete NMR-Messgrösse A (obs) ist gegeben durch:

$$(60) \quad A(\text{obs}) = \frac{a^2(\text{H}^+) A(\text{H}_2\text{A}) + K_1 a(\text{H}^+) A(\text{HA}) + K_1 K_2 A(\text{A})}{a^2(\text{H}^+) K_1 a(\text{H}^+) + K_1 K_2}$$

$A(\text{H}_2\text{A})$, $A(\text{HA})$ und $A(\text{A})$ bedeuten die NMR-Messgrössen der gemeinsamen Resonanz für den in Klammern indizierten Protomerisierungszustand. $A(\text{H}_2\text{A})$ und $A(\text{A})$ können aus den NMR-Spektren genügend saurer resp. basischer Lösungen erhalten werden.

Die für die Berechnung der Mikrokonstanten benötigten genäherten Makrokonstanten sollten zur Erhaltung konstanter Messbedingungen in ein und demselben Experiment bestimmt werden. Makroskopische Konstanten K_1 , K_2 und die NMR-Messgrösse $A(\text{HA})$ können durch eine nichtlineare "least squares" Regressionsrechnung¹⁰⁰ aus der Gleichung (60) gewonnen werden. Ein Computerprogramm für diese Aufgabe wurde von Dye und Nicely entwickelt und beschrieben.¹⁰²

7. Titrationsexperimente an Aminosäuren und Oligopeptiden

Von folgenden Aminosäuren und Oligopeptiden wurden in D_2O im pD-Bereich pD = 0 bis pD = 14 mehrere 1H gekoppelte ^{13}C -NMR Spektren gemessen.

Glycin	Alanin	Sarcosin
Glycylglycin	Alanylalanin	Sarcosylsarcosin
Triglycin	Trialanin	

Aus den ^{13}C -chemischen Verschiebungen und den $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstanten wurden die gemittelten pK_S -Werte mit einem "Einparameterfit" basierend auf Gleichung (57) ermittelt (pK_S -Werte in III.7.1.). Aus den pK_S -Werten und den gemittelten $^1J(C\alpha,H)$ -Messwerten für Kation, Zwitterion und Anion wurde für jede untersuchte Substanz eine optimierte Titrationskurve berechnet. (vgl. Anhang)

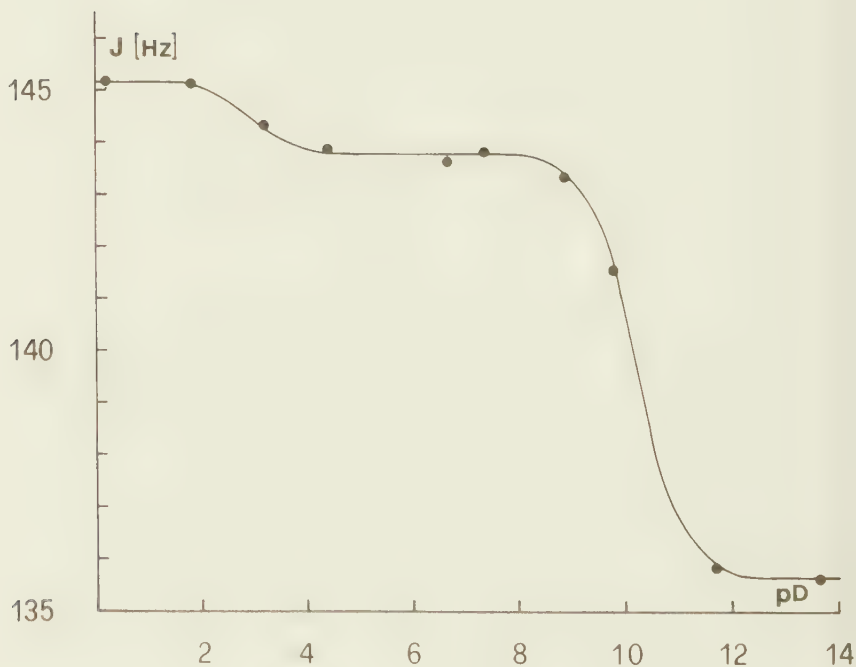
Diese Kurve wird in den Figuren 19-26 den experimentellen $^1J(C\alpha,H)$ -Kopplungskonstanten gegenübergestellt. Abweichungen von experimentellen Werten, besonders im pD-Bereich um pK_S^2 sind auf den Einfluss paramagnetischer Ionen zurückzuführen. (vgl. III.5.)

Infolge der dadurch induzierten Linienverbreiterung konnten Kopplungskonstanten in den Protonierungsstufen oft nur ungenau ermittelt werden (Messfehler z.T. bis 3 Hz). Die Kurven basieren in solchen Fällen auf den pK_S -Werten aus den genauer bestimmbaren ^{13}C -chemischen Verschiebungen.

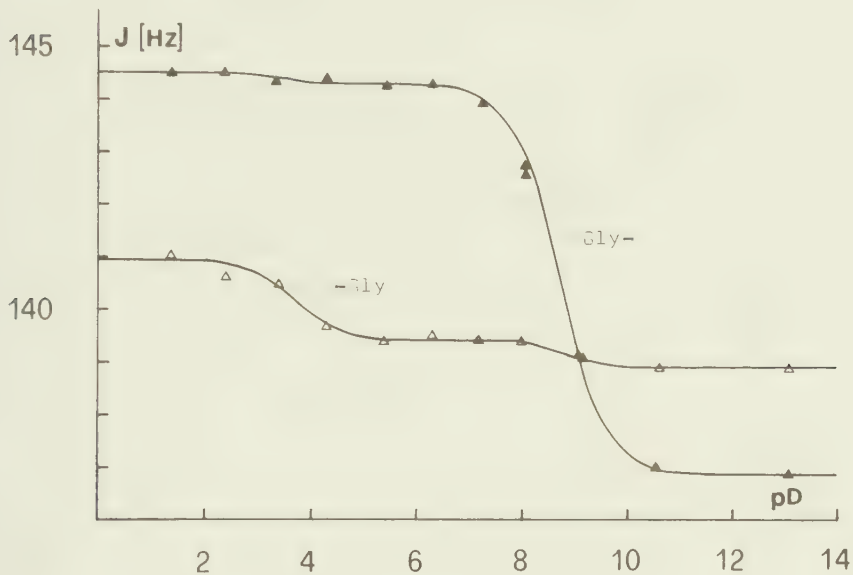
Das Dipeptid Sarcosylsarcosin tritt als Diastereoisomeren-gemisch auf (Figur 26). Die N-Methylgruppe bewirkt eine Verkleinerung des Energieunterschieds zwischen dem cisoid- und transoid-Amid, sodass beide Formen in Lösung vorliegen. Das Verhältnis der beiden Isomere beträgt ca. 1 : 1. Eine Zuordnung der ^{13}C -NMR Signale zur cisoiden resp. transoiden Form ist aufgrund der NMR-Daten nicht eindeutig. (Neueste eigene Untersuchungen zeigten ein analoges Verhalten von Glycylprolin)

Figuren 19-26: Verhalten der $^1J(C_{\alpha},H)$ -Kopplungskonstanten in Aminosäuren und Peptiden in Abhängigkeit vom pD.

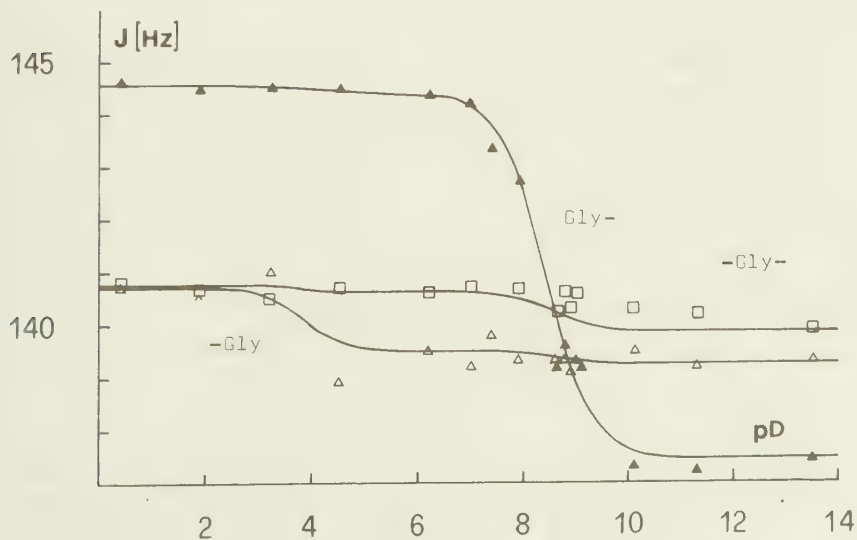
Figur 19: Glycin, $T = 35^{\circ}\text{C}$



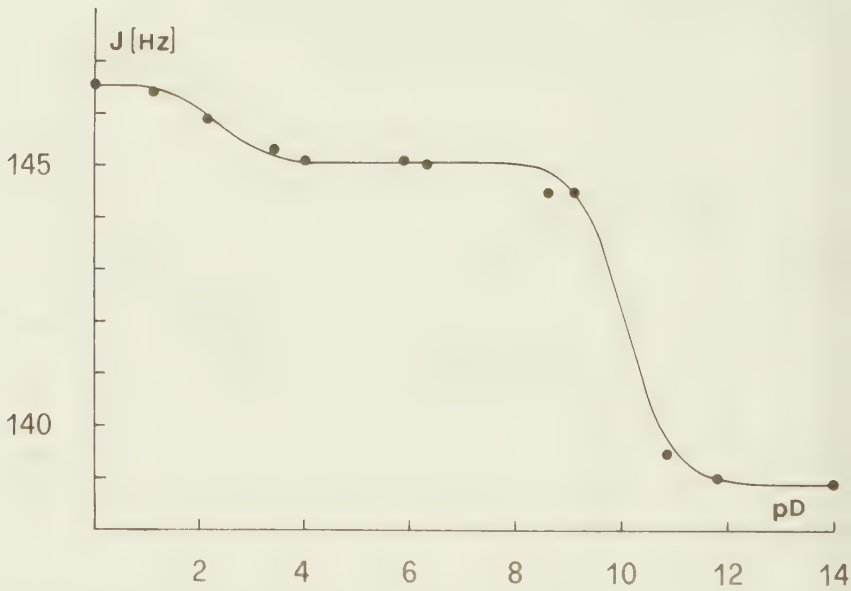
Figur 20: Glycylglycin, $T = 35^{\circ}\text{C}$



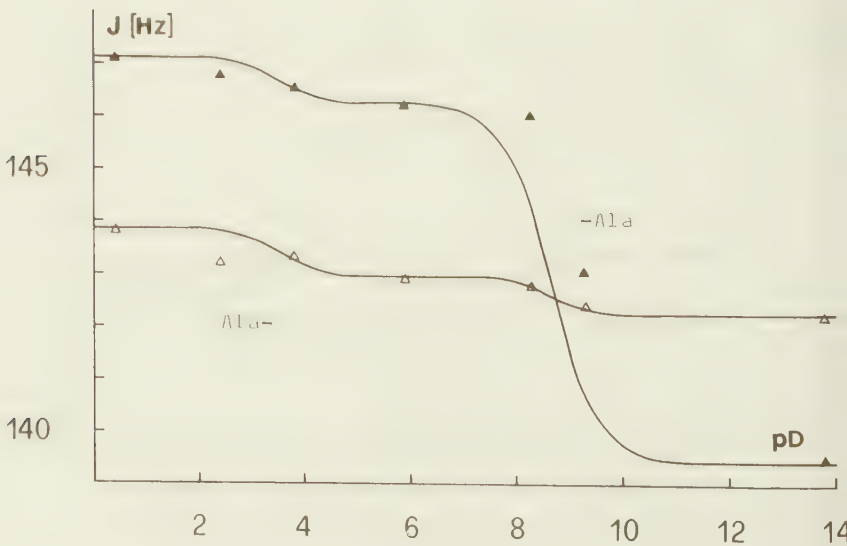
Figur 21: Triglycin, $T = 35^{\circ}\text{C}$



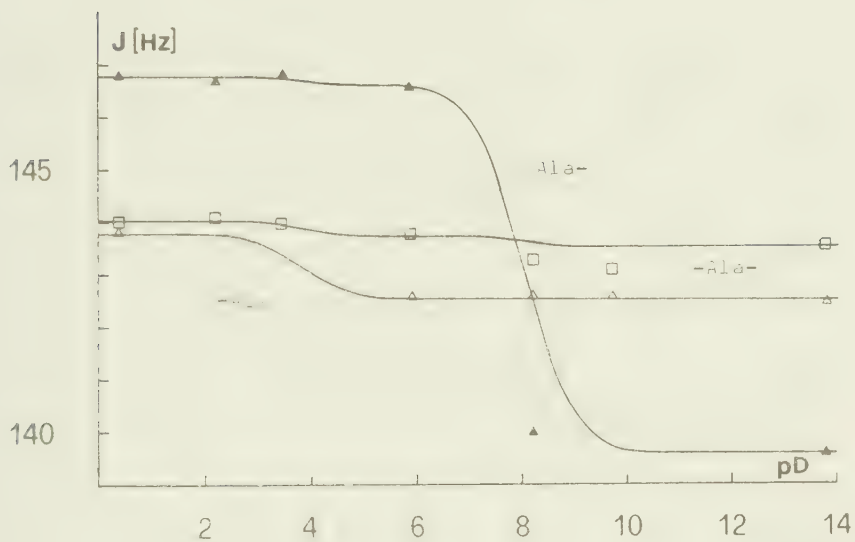
Figur 22: Alanin, $T = 35^{\circ}\text{C}$



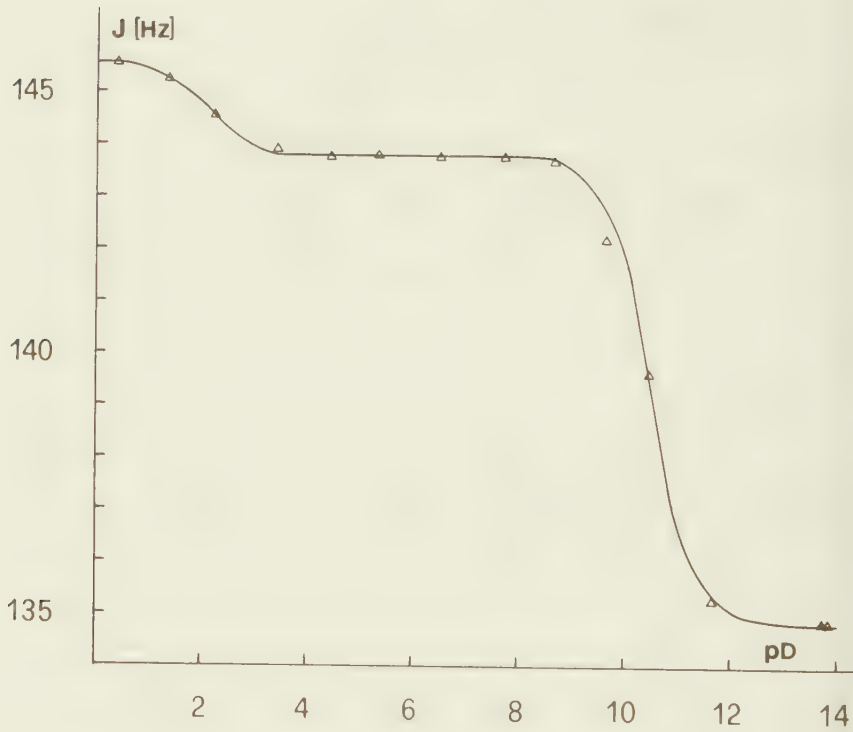
Figur 23: Alanylalanin, $T = 35^{\circ}\text{C}$



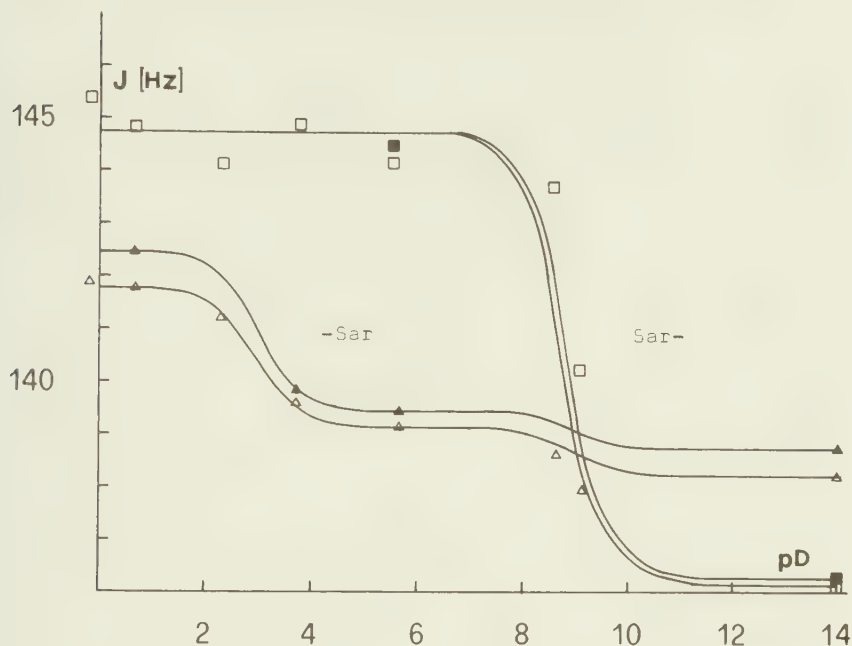
Figur 24: Trialanin, $T = 35^{\circ}\text{C}$



Figur 25: Sarcosin, $T = 40.0^\circ$



Figur 26: cisoid/transoid Sarcosylsarcosin, $T = 40^{\circ}\text{C}$



7.1. Protonierungsshifts $\Delta\delta(^{13}\text{C})$ und $\Delta^1J(\text{C}\alpha, \text{H})$

In den Tabellen 17-19 werden die Effekte der Deprotonierung (Ausgangspunkt ist $\text{pD}=0$) auf die ^{13}C -chemischen Verschiebungen und die $^1J(\text{C}\alpha, \text{H})$ -Kopplungskonstanten dargestellt. Die bei der Auswertung der Messreihen ermittelten pK_s -Werte sind hier aufgeführt.

Die Daten wurden im Hinblick auf sinnvolle lineare Korrelationen ausgewertet. (III.7.1.1.)

Tabelle 17: Experimentelle pK_s -Werte, Protonierungsshifts $\Delta\delta(\text{ppm})$ und $\Delta J(\text{Hz})$ in Glycin, Gly₂, Gly₃

	Kation $\rightleftharpoons$ Zwitterion		Zwitterion $\rightleftharpoons$ Anion	
	$\Delta\delta(\text{ppm})$ (± 0.02)	$\Delta J(\text{Hz})$ (± 0.1)	$\Delta\delta(\text{ppm})$ (± 0.02)	$\Delta J(\text{Hz})$ (± 0.1)
<u>Glycin</u>				
pK_s				
CO:	2.79	-	9.14	-
C(α):	1.35	-1.4	3.31	-8.1
<u>Gly₂</u>				
pK_s	3.66 $\pm$ 0.02		8.73 $\pm$ 0.05	
CO:				
Gly-	-0.67	-	8.49	-
-Gly	3.26	-	0.44	-
C(α):				
Gly-	0.10	0.2	3.41	-7.4
-Gly	2.17	-1.5	-0.12	-0.5
<u>Gly₃</u>				
pK_s				
C(α):				
Gly-	0	-0.2	3.33	-7.0
-Gly-	0.15	-0.1	-0.07	-0.7
-Gly	2.20	-1.2	0	-0.2

Tabelle 18: Experimentelle pK_s -Werte, Protonierungsshifts $\Delta\delta$ (ppm) und ΔJ (Hz) in Alanin, Ala₂, Ala₃

Kation $\rightleftharpoons$ Zwitterion		Zwitterion $\rightleftharpoons$ Anion	
$\Delta\delta$ (ppm)	ΔJ (Hz)	$\Delta\delta$ (ppm)	ΔJ (Hz)
(± 0.015)	(± 0.35)	(± 0.015)	(± 0.35)

Alanin

pK_s	2.34 $\pm$ 0.13		10.09 $\pm$ 0.02	
CO:	3.37	-	8.77	-
C(α):	1.79	-1.5	0.83	-6.2
C(β):	0.88	-1.4	4.39	-2.0

Ala₂

pK_s	3.55 $\pm$ 0.10		8.64 $\pm$ 0.05	
CO:				
Ala-	-0.79	-	7.86	-
-Ala	3.79	-	0.38	-
C(α):				
Ala-	0.10	-0.9	0.93	-6.8
-Ala	2.56	-0.9	-0.45	-0.7
C(β):				
Ala-	0.37	-0.8	1.10	-1.2
-Ala	3.53	-2.0	-0.10	-0.4

Ala₃

pK_s	3.81 $\pm$ 0.27		8.04 $\pm$ 0.03	
CO:				
Ala-	0.13	-	7.85	-
-Ala-	-1.01	-	0.52	-
-Ala	3.60	-	0.12	-

Forts. Tabelle 18

	Kation $\rightleftharpoons$ Zwitterion		Zwitterion $\rightleftharpoons$ Anion	
	$\Delta\delta$ (ppm) ± 0.01	ΔJ (Hz) ± 0.1	$\Delta\delta$ (ppm) (± 0.015)	ΔJ (Hz) (± 0.35)
$J(\alpha):$				
Ala-	0.16	-0.2	0.66	-7.0
-Ala-	0.14	-0.3	-0.29	-0.2
-Ala	2.37	-1.2	-0.03	0
$C(\beta):$				
Ala-	0.04	0.5	3.53	-2.4
-Ala-	1.17	-1.1	0.13	-1.3
-Ala	1.91	-1.1	-0.13	-2.4

Tabelle 19: Experimentelle pK_s -Werte, Protonierungsshifts $\Delta\delta$ (ppm) und ΔJ (Hz) in Sarcosin, Sar₂

	Kation $\rightleftharpoons$ Zwitterion		Zwitterion $\rightleftharpoons$ Anion	
	$\Delta\delta$ (ppm) (± 0.01)	ΔJ (Hz) (± 0.3)	$\Delta\delta$ (ppm) (± 0.01)	ΔJ (Hz) (± 0.3)
<u>Sarcosin</u>				
pK_s	2.20 $\pm$ 0.06		10.51 $\pm$ 0.01	
CO:	2.63	-	8.41	-
C(α):	2.07	-1.8	3.32	-8.9
C(Me):	-0.29	-0.9	-1.83	-8.9
<u>Sar₂</u>				
pK_s	3.09 $\pm$ 0.09		8.84 $\pm$ 0.01	
CO:				
Sar-	3.37	-	0.85	-
	4.41	-	1.02	-
-Sar	0.50	-	6.99	-
	0.04	-	6.58	-
C(α):				
Sar-	2.85	-2.8	0.16	-0.9
	2.25	-2.5	0.03	-0.7
-Sar	0	-0.9	1.58	-8.4
	0	-1.2	1.36	-7.9
C(Me):				
Sar-	-0.48	-0.2	0.12	0
	-0.38		-0.34	0
-Sar	-0.52	zu breit	-0.25	-5.5
	-0.51		-0.28	

7.1.1. Korrelationen zwischen ^{13}C -chemischen Verschiebungen und $\Delta J(\text{C}\alpha, \text{H})$

Analog zur Beziehung (32), welche eine lineare Korrelation zwischen chemischer Verschiebung $\delta(^{13}\text{C})$ und $^1J(\text{C}, \text{C})$ beschreibt, können die Protonierungsshifts $\Delta\delta$ linear mit den Protonierungsstufen der Kopplungskonstanten ΔJ in Verbindung gebracht werden. Die Korrelationsgleichungen und ihre Korrelationskoeffizienten sind in (61) bis (65) gegeben.

Glycin, Gly₂, Gly₃:

$$\begin{aligned} (61) \quad \Delta J(\text{C}\alpha, \text{H}) &= -4.924 \quad \Delta\delta(\text{C}\alpha) + 9.275 \\ k &= 0.9992 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} (62) \quad \Delta J(\text{C}\alpha, \text{H}) &= -0.935 \quad \Delta\delta(\text{CO}) + 0.663 \\ k &= 0.999 \end{aligned}$$

Alanin, Ala₂, Ala₃:

$$\begin{aligned} (63) \quad \Delta J(\text{C}\alpha, \text{H}) &= 3.741 \quad \Delta\delta(\text{C}\alpha) - 10.248 \\ k &= 0.998 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} (64) \quad \Delta J(\text{C}\alpha, \text{H}) &= -1.408 \quad \Delta\delta(\text{CO}) + 4.129 \\ k &= 0.996 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} (65) \quad \Delta J(\text{C}\alpha, \text{H}) &= -0.451 \quad \Delta\delta(\text{C}\beta) - 0.614 \\ k &= 0.96 \end{aligned}$$

Für die Protonierungsshifts $\Delta\delta(\text{CO})$ und $\Delta J(\text{C}\beta, \text{H})$ ergibt sich keine lineare Korrelation.

Sarcosin, Sar₂:

$$(66) \quad \begin{aligned} J(C\alpha, H) &= -1.085 \Delta\delta(C\alpha) + 0.227 \\ k &= 0.864 \end{aligned}$$

$$(67) \quad \begin{aligned} J(C\alpha, H) &= -0.765 \Delta\delta(CO) - 0.315 \\ k &= 0.890 \end{aligned}$$

7.1.2. Korrelationen zwischen pK_s und Protonierungseffekten

Die Titrationsshifts der Carboxyl-¹³C NMR Signale von 40 Carbonsäuren wurden von R.E. London¹⁰³ mit den pK_s-Werten korreliert. Dabei wurde die folgende lineare Beziehung zwischen pK_s und Δδ(CO) gefunden (68).

$$(68) \quad \Delta\delta(CO) = 0.77 \text{ pK}_s + 0.81$$

Die obige empirische Gleichung lässt sich sinngemäss auch auf die pK_s-Werte der Aminosäuren und Peptide anwenden. Bemerkenswerterweise stimmt die Relation auch dann recht gut, wenn die pK_s²-Werte in die lineare Regression miteinbezogen werden. Für die Glycyl, Alanyl- und die Sarcosylverbindungen erhält man folgende empirische Beziehungen: (T = 35°C für die Glycyl- und Alanyl-derivate, T = 40°C für die Sarcosylverbindungen)

$$(69) \quad \Delta\delta(CO) = 0.80 \text{ pK}_s(D) + 0.88$$

Oder nach pK_s(D) aufgelöst:

$$(70) \quad \text{pK}_s(D) = 1.26 \Delta\delta(CO) - 1.10$$

Auf diese Weise lassen sich aus den Messungen der Carboxyl-shifts am Kation, Zwitterion und Anion einer Aminosäure oder eines Peptides die pK_S -Werte abschätzen.

Vorgängig wurde festgestellt, dass sich die Protonierungseffekte auf $\Delta J(C\alpha, H)$ und die Amino- resp. Carboxyl-Titrationsshifts $\Delta\delta$ linear korrelieren lassen.

Es ist nun naheliegend, die Korrelation von pK_S -Werten auch mit $\Delta J(C\alpha, H)$ durchzuführen. Unter Einbezug aller Titrationsexperimente an den Glycyl-, Alanyl- und Sarcosylverbindungen wurde folgende Beziehung ermittelt:

$$(71) \quad \Delta J(C\alpha, H) = -0.94 \, pK_S + 1.29$$

Damit ist eine Möglichkeit gegeben, aus bekannten resp. nach Beziehung (70) ermittelten pK_S -Werten und einer am Kation, Zwitterion oder Anion gemessenen Kopplungskonstante das Verhalten der $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten über den gesamten pH (pD)-Bereich abzuschätzen.

Tabelle 20 gibt einen Ueberblick über die Genauigkeit der auf diese Weise aus den $pK(D)$ -Werten berechneten Protonierungseinflüsse auf die $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten.

Tabelle 20: Experimentelle und mit Beziehung (71) berechnete $\Delta^1J(C\alpha, H)$ -Werte.

		$pK_s(D)$	$\Delta J(ber.)$ (Hz)	$\Delta J(exp.)$ (Hz)	
<u>Glycin</u>	pK_1	2.92	-1.46	-1.42	
	pK_2	10.24	-8.33	-8.12	
<u>Gly</u> ₂	pK_1	3.66	-2.15	-1.54	
	pK_2	8.73	-6.92	-7.43	
<u>Gly</u> ₃	pK_1	3.81	-2.29	-1.42	
	pK_2	8.44	-6.64	-7.22	
<u>Alanin</u>	pK_1	2.34	-0.91	-1.42	
	pK_2	10.09	-8.19	-6.26	
<u>Ala</u> ₂	pK_1	3.55	-2.05	-0.90	
	pK_2	8.64	-6.83	-6.76	
<u>Ala</u> ₃	pK_1	3.81	-2.29	-1.23	
	pK_2	8.04	-6.27	-7.11	
<u>Sarcosin</u>	pK_1	2.20	-0.78	-1.83	
	pK_2	10.51	-8.59	-8.92	
<u>Sar</u> ₂	pK_1	3.09	-1.61	-2.77	-2.46
	pK_2	8.84	-7.02	-8.35	-7.92

7.2. Chemische Verschiebungen und Kopplungskonstanten

In den Tabellen 21-23 sind die chemischen Verschiebungen (Referenz Dioxan = 66.5 ppm) und die gemessenen $^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$ -Kopplungskonstanten (in Hz) für die kationischen, zwitterionischen und anionischen Formen der untersuchten Verbindungen zusammengefasst.

Die Bezeichnung der einzelnen Aminosäuren in der Sequenz der Peptidkette geschieht nach dem üblichen Formalismus. (AS = Aminosäure: AS- = aminoendständig, -AS- = in der Peptidkette, -AS = carboxylendständig.)

Die anschliessende Auswertung der Messdaten führt zu Malinowski-Inkrementen δ für $^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$ -Kopplungskonstanten in Peptiden. (vgl. III.7.3.)

Tabelle 21: ^{13}C -chemische Verschiebungen (rel. Dioxan = 66.5 ppm) und Kopplungskonstanten für den kationischen, zwitterionischen und anionischen Protonierungszustand von Glycin, Glycylglycin und Triglycin.

Chemische Verschiebungen: ± 0.05 ppm

Kopplungskonstanten : ± 0.2 Hz

Glycin:

		Kation	Zwitterion	Anion
$\delta\text{C}(\alpha)$	ppm	40.06	41.41	44.72
$\delta\text{C}(\text{CO})$	ppm	169.41	172.2	181.34
$^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$	Hz	145.2	143.7	135.6

Forts.

Gly₂:

	Kation	Zwitterion	Anion
$\delta C(\alpha)$ ppm			
Gly-	40.38	40.47	43.88
-Gly	41.02	43.19	43.07
$\delta C(CO)$ ppm			
Gly-	167.38	166.71	175.20
-Gly	172.85	176.11	176.55
$^1J(C\alpha, H)$ Hz			
Gly-	144.5	144.3	136.9
-Gly	141.0	139.5	138.9

Gly₃:

$\delta C(\alpha)$ ppm			
Gly-	40.48	40.48	43.81
-Gly-	42.19	42.34	42.27
-Gly	40.96	43.16	43.15
$^1J(C\alpha, H)$ Hz			
Gly-	144.6	144.4	137.4
-Gly-	140.8	140.6	140.0
-Gly	140.7	139.5	139.3

Tabelle 22: ^{13}C -chemische Verschiebungen (rel. Dioxan = 66,5 ppm) und Kopplungskonstanten für den kationischen, zwitterionischen und anionischen Protonierungszustand von Alanin, Alanylalanin und Trialanin.

Alanin:

		Kation	Zwitterion	Anion
$\delta_{\text{C}}(\alpha)$	ppm	48,68	50,47	51,30
$\delta_{\text{C}}(\beta)$	ppm	15,30	16,18	20,27
$\delta_{\text{C}}(\text{CO})$	ppm	172,15	175,52	184,29
$^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$	Hz	146,5	145,1	138,9

Ala₂:

$\delta_{\text{C}}(\text{C}\alpha)$	ppm			
Ala-		48,89	48,99	49,92
-Ala		48,65	51,21	50,76
$\delta_{\text{C}}(\text{C}\beta)$	ppm			
Ala-		16,48	16,39	19,91
-Ala		15,98	17,08	17,45
$\delta_{\text{C}}(\text{CO})$	ppm			
Ala-		172,15	175,52	177,47
-Ala		175,73	179,52	179,9
$^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$	Hz			
Ala-		147,1	146,2	139,5
-Ala		143,8	142,9	142,2

Forts.

Ala₃:

	Kation	Zwitterion	Anion
$\delta(\text{C}\alpha)$			
Ala-	48.84	49.0	49.66
-Ala-	49.56	49.7	49.41
-Ala	48.54	50.91	50.88
$\delta(\text{C}\beta)$			
Ala-	16.59	16.63	20.16
-Ala-	16.44	16.51	16.74
-Ala	16.09	17.60	17.51
$\delta(\text{CO}) (\pm 0.2 \text{ ppm})$			
Ala-	170.16	170.31	178.16
-Ala-	174.2	173.19	173.68
-Ala	175.95	179.55	179.67
$^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$			
Ala-	146.8	146.6	139.6
-Ala-	144.0	143.6	143.6
-Ala	143.8	142.8	142.5

Tabelle 23: ^{13}C -chemische Verschiebungen (rel. Dioxan = 66.5 ppm) und Kopplungskonstanten für den kationischen, zwitterionischen und anionischen Protonierungszustand von Sarcosin und Sarcosylsarcosin.

Sarcosin:

	Kation	Zwitterion	Anion
$\delta(\text{C}\alpha)$	48.75	50.85	54.14
$\delta(\text{NCH}_3)$	32.99	32.74	34.59
$\delta(\text{CO})$	168.48	171.09	179.48
$^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$	145.6	143.8	134.8
$^1\text{J}(\text{CH}_3)$	144.2	143.4	134.4

Sar₂:

$\delta(\text{C}\alpha)$	49.89	49.07	50.58
Sar-	49.55	48.88	50.31
-Sar-	48.97	52.47	52.90
		51.35	51.84
$\delta(\text{CH}_3)$			
Sar-	32.94	32.99	34.58
-Sar	35.72	35.27	35.36
	35.35	34.84	34.90

Forts.

	Kation	Zwitterion	Anion
$\delta(\text{CO})$			
Sar-	166.68	166.29	173.2
	166.22	166.15	172.8
-Sar	172.14		175.8
	170.61	174.79	176.4
$^1J(\text{C}\alpha, \text{H})$			
Sar-	145.4	145.0	136.3
			136.2
-Sar-	142.5	139.6	138.3
	141.8	139.8	138.8

7.4. Ermittlung von Malinowski-Inkrementen δ für
 $^1J(C\alpha, H)$ in Peptiden

Um möglichst genaue Malinowski-Inkrementen zu erhalten, wurden die Aminosäuren resp. die Di- und Tripeptide gesondert behandelt. Zudem wurde ein erster Satz von Gleichungssystemen aus den Glycin- und Alaninderivaten und ein zweiter Satz aus den Sarcosinderivaten gebildet. Auf diese Weise wird zwischen den unsubstituierten Aminogruppen und der N-Methylgruppe in den Sarcosylpeptiden unterschieden.

Vorteilhaft ist, dass auf diese Weise die Malinowski-Inkrementen der Carboxylat- und der Ammoniumgruppe einmal aus den Aminosäuren Alanin und Glycin respektive aus den entsprechenden Di- und Tripeptiden ermittelt werden.

Darstellung 4 veranschaulicht die Änderungen der Substituenten an $C\alpha$ für die verschiedenen Protonierungszustände an den untersuchten Aminosäuren resp. Di- und Tripeptiden.

Darstellung 4: Substituenten an C α für die kationischen, zwitterionischen und anionischen Protonierungszustände (R = -H oder -CH₃)

Position der Aminosäure im Peptid	Substituenten an C α		
	Kation	Zwitterion	Anion
-Aminosäure	-CON- -H, -R -NH⁺		-CON- -H, -R -N
-Aminosäure-	-CON- -H, -R -NCO-		
Aminosäure-	-COOH -H, -R -NCO-	-COO⁻ -H, -R -NCO-	
Aminosäure			
Glycin	-COOH -H, -R -NH⁺	-COO⁻ -H, -R -NH⁺	-COO⁻ -H, -R -N
Alanin			

Aus in den Tabellen 21-23 dargestellten Messresultaten lassen sich für die Glycyl- und die Alanylverbindungen zusammen mit den Aminosäuren je acht Gleichungen herleiten. Werden die bekannten Werte für die Malinowski-Inkrementen $\zeta(-H)$, $\zeta(-CH_3)$, $\zeta(-COOH)$ und $\zeta(-NH_2)$ in die Gleichungen eingesetzt resp. von den gemessenen Kopplungskonstanten subtrahiert ($j = J - \sum \zeta_i$), so erhält man für die Di- und Tripeptide von Glycin und Alanin je fünf Gleichungen. Weil die Gleichungen durch die Subtraktion der Malinowski-Inkrementen für die $C(\alpha)$ -Substituenten ($-H$, resp. $-CH_3$) unabhängig von der Aminosäure geworden sind, liegen fünf paarweise identische Gleichungen vor. Diese identischen Gleichungen aus Glycin und Alanin wurden gemittelt und daraus eine Abweichung vom Durchschnittswert ermittelt.

Aus den Aminosäuren Glycin und Alanin lässt sich analog ein Gleichungssystem mit zwei Unbekannten bilden.

In Tabelle 24 sind die Gleichungssysteme für die Di- und Tripeptide resp. die Aminosäuren dargestellt.

Zur Berechnung der Malinowski-Inkrementen in den Sarcosylverbindungen wurde der aus den Alanyl- und Glycylverbindungen berechnete Wert für das Carboxylation eingesetzt. Durch Ergänzen der Summe der bekannten Inkrementen für die entsprechenden Substituenten auf die gemessene Kopplungskonstante wurden die restlichen unbekannten Malinowski-Inkrementen in Sarcosin und Disarcosyl ermittelt.

In Tabelle 25 sind so erhaltene Malinowski-Inkrementen für die ionischen Gruppen in Aminosäuren und Peptiden und die an $C(\alpha)$ gebundenen Reste in einer Peptidkette dargestellt.

Tabelle 24: Darstellung der Gleichungen zur Berechnung der Malinowski-Inkrementen .

Peptide

Anzahl Substituenten				$j = J - \sum \zeta_i$ (Hz)
-CON-	-NH ⁺	-NCO-	-COO ⁻	
1	1	0	0	103.5 ± 1
1	0	0	0	46.6 ± 1
1	0	1	0	99.9 ± 1.8
0	0	1	0	53.1 ± 1.4
0	0	1	1	98.8 ± 1.7

Aminosäuren

Anzahl Substituenten		$j = J - \sum \zeta_i$ (Hz)
-NH ⁺	-COO ⁻	
1	0	56.6 ± 0.3
0	1	45.6 ± 1.8
1	1	101.9
1	1	102.5

Die maximale Abweichung zwischen berechneter und experimenteller Kopplungskonstante für die untersuchten Glycyl-, Alanyl- und Sarcosylpeptide wurde mit ± 1.5 Hz ermittelt. Da die Messungen in D₂O durchgeführt wurden, beziehen sich die ermittelten Inkrementen j auf wässrige Lösungen (vgl. III.2.)

Tabelle 25: Malinowski-Inkrementen δ (in Hz) für
 α -Substituenten in Aminosäuren und
 Peptiden

Substituent		Inkrement	Substituent Inkrement	
	Peptid	Aminosäure		
$-\text{NH}_3^+$	56.6 ± 1.1	56.6 ± 0.3	$-\text{CONH}-$	46.6 ± 1.8
$-\text{NH}_2^+$			$-\text{NH}_2^+$	46.6 ± 0.3
$-\text{NCH}_3$		47.4	$-\text{NHCO}-$	53.1 ± 1.4
$-\text{COO}^-$	45.7 ± 1.7	45.6 ± 1.8	$-\text{NCH}_3\text{CO}-$	51.8 ± 0.8

8. Konformationsabhängigkeit von $^1J(C\alpha, H)$

Es wurde an einer Reihe offenkettiger Peptide, Diketo-piperazine, cyclischer Tetra-, Hexa- und Octapeptide die $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten gemessen.

Anhand der $^1J(C\alpha, H)$ Messwerte und bekannter Winkel Φ' und Ψ' zwischen der $C\alpha, H$ -Bindung und dem benachbarten p_z -Orbital am Stickstoff resp. dem π -System der CO-Gruppe, wurde eine experimentelle Gleichung für $^1J(C\alpha, H) = \text{Fkt.}(\Phi', \Psi')$ entwickelt. (vgl. Figur 31)

8.1. Offenkettige Peptide:

In Kapitel III.7. wurde gezeigt, dass die $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten protonierbarer Peptide (kopf- resp. endständig) in Abhängigkeit vom Protonierungszustand einen Bereich von 135 - 147 Hz überstreichen.

Aminosäureeinheiten innerhalb der Peptidkette besitzen über den gesamten pD-Bereich relativ konstante $^1J(C\alpha, H)$ -Werte.

In Kapitel III. 7.3. wurden Malinowski-Inkrementen zur Berechnung der $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten $J(\zeta)$ in Peptiden ermittelt. Die experimentellen Kopplungskonstanten kommen zustande aus den Anteilen der Kopplung über alle möglichen Konformationen. Die experimentellen Werte lassen sich aus den Inkrementen ζ reproduzieren, d.h. die an offenkettigen Peptiden und an Aminosäuren ermittelten Malinowski-Inkrementen enthalten ebenfalls die konformationell gemittelten Anteile zur Kopplung. Gleichung (79) gibt eine Möglichkeit zur Ermittlung des rein konstitutionellen Beitrags A zur $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplung. (vgl. III.8.4.)

In Tabelle 26 sind einige charakteristische $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten offenkettiger Glycylpeptide aufgeführt.

Tabelle 26: $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten in offenkettigen Glycylpeptiden. ($D_2O, T = 35^\circ$)
 $^1J(C\alpha, H)$ der unterstrichenen Gly-Einheit wurde gemessen.

<u>-Gly-</u>	$^1J(C\alpha, H)$ Hz		
	Kation	Zwitterion	Anion
Gly-Gly-Gly	140.8	140.6	140.0
Gly-Gly-Gly-Gly	141.0	141.0	140.0
Gly-Gly-Gly-Gly	141.0	141.0	140.0
Enkephalin (<u>Gly</u> -2)	-	141.3	-
Z-Gly-OEt (in $CDCl_3$)	-	141.5	-

Tabelle 26 zeigt, dass sich die konformationell gemittelten $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten über den gesamten pD-Bereich nicht stark ändern.

Mit Hilfe der Inkremente ζ wird für $^1J(C\alpha, H)$ in Glycineinheiten ein Wert von 141.4 Hz berechnet. In Trialanin wurden im Kation, Zwitterion und Anion $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungen von 144.0, 143.8 und 143.6 Hz für die zweite Aminosäureeinheit gemessen. Die Berechnung mit Malinowski-Inkrementen ergibt einen Wert von 142.3 Hz. Die gemessenen Werte liegen deutlich über dem berechneten Wert. Dies könnte auf eine sich anbahnende konformationelle Fixierung der Tripeptidkette zurückzuführen sein.

Allerdings liegen noch zuwenig $^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$ -Daten offenkettiger Peptide vor, um diese Vermutung zu belegen.

8.2. Diketopiperazine

Diketopiperazine werden aufgrund ihrer eingeschränkten intramolekularen Beweglichkeit oft als Modellsubstanzen für die Konformationsanalyse in Peptiden verwendet.¹⁰⁴⁻¹⁰⁷

Die Strukturermittlung stützt sich dabei auf Röntgenstrukturanalysen, CD-Messungen, $^1\text{H-NMR}$ ¹⁰⁷ (relative chemische Verschiebungen zwischen Methylenprotonen in glycin- oder sarcosinhaltigen Diketopiperazinen, $^3\text{J}(\text{HCNH})$ - und homoallylische $^5\text{J}(\text{H,H})$ -Kopplungskonstanten, ^{13}C -chemische Verschiebungen¹⁰⁶ und T_1 -Messungen.¹⁰⁴

8.2.1 Regeln zur Konformationsanalyse in Diketopiperazinen.

Die Konformation von Diketopiperazinringen wird durch drei Faktoren bestimmt.

1. Möglichst geringe Wechselwirkung der Aminosäure-Seitenketten untereinander.
2. Eine aromatische Seitenkette kommt so über den Diketopiperazinring zu liegen, dass optimale Überlagerung des aromatischen und des Diketopiperazinrings eintritt (flagpole-post).¹⁰⁴
3. In cyclischen Dipeptiden aus nichtaromatischen L- resp. D-Aminosäuren dominiert im Konformationsgleichgewicht die Wannenkonformation mit äquatorialer Anordnung der Seitenketten.

8.2.2. Konformationsgleichgewichte

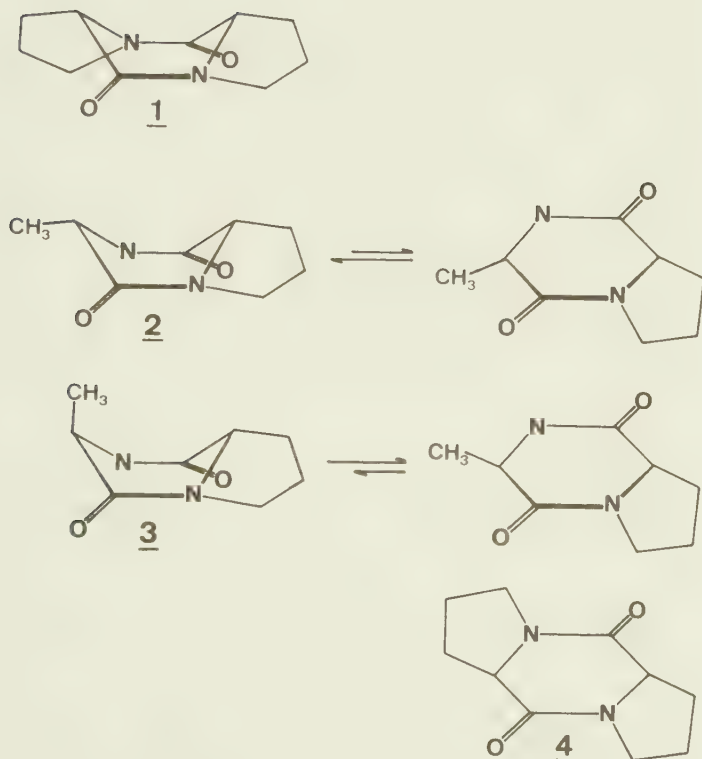
In Lösung können Konformationsgleichgewichte beobachtet werden. Für cyclo(L-Pro-L-Ala) wurde berechnet, dass rund 77% der Moleküle in der Wannenkonformation vorliegen. Cyclo(L-Pro-D-Ala) soll laut Siemion¹⁰⁶ im Gleichgewicht zu 86% in der planaren Konformation vorliegen.

Die starren Diketopiperazinringe von cyclo(L-Pro-L-Pro) und cyclo(L-Pro-D-Pro) können als Extremfälle der oben beschriebenen Konformationsgleichgewichte betrachtet werden. Cyclo(L-Pro-L-Pro) bildet eine starre Wanne aus, während in cyclo(L-Pro-D-Pro) ein planarer Diketopiperazinring auftritt.¹⁰⁶

Figur 27 veranschaulicht die Abhängigkeit der Konformation des Diketopiperazinrings von der Wechselwirkung zwischen den Aminosäureseitenketten. (Cyclo(L-Pro-L-Pro) = 1, cyclo(L-Pro-L-Ala) = 2, cyclo(L-Pro-D-Ala) = 3, cyclo(L-Pro-D-Pro) = 4)

In nicht prolinhaltigen cyclischen Dipeptiden wird die konformationelle Freiheit der Diketopiperazinringe grösser, sodass zwei Wannenkonformationen im Gleichgewicht auftreten können.

Figur 27: Einfluss der Aminosäureseitenketten auf das Konformationsgleichgewicht (Wanne-planar) in prolinhaltigen Diketopiperazinen.¹⁰⁶



1.1.4. ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren und Ringkonformation

In Tabelle 27 sind die ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten für die ABX-Spinsysteme der Glycineinheit einer Reihe von Diketopiperazinen des Typs $\text{cyclo}(\text{Gly-X})$ tabelliert.

Die Regeln der Konformationsanalyse in Diketopiperazinen lassen sich auf die glycinhaltigen Dipeptide $\text{cyclo}(\text{Gly-L-Leu})$, $\text{cyclo}(\text{Gly-L-Ser})$ und $\text{cyclo}(\text{Gly-L-Thr})$ nicht anwenden. Aufgrund der Spektrenanalyse der Glycineinheiten ($\delta(\text{A,B}) \neq 0$ und $\text{J}(\text{A,X}) = \text{J}(\text{B,X})$) (vgl. Kapitel III. 1.1.4.) müssen folgende zwei Möglichkeiten in Betracht gezogen werden:

1. Annähernd planarer Diketopiperazinring
2. Gleichgewicht zwischen zwei annähernd gleich stark gefalteten Wannenkonformationen.

Für $\text{cyclo}(\text{Gly-L-Leu})$ wurde mit ^1H -NMR Spektroskopie eine schwach geknickte Wannenkonformation ermittelt.

Für die beiden aromatischen Diketopiperazine $\text{cyclo}(\text{Gly-L-Phe})$ und $\text{cyclo}(\text{Gly-L-Tyr})$ sagen die Regeln Wannenkonformationen mit pseudo-axialer Anordnung der aromatischen Seitenketten voraus (flagpole-boat). Die Spektren der C_6H_5 -Gruppe der Glycineinheiten in den aromatischen Diketopiperazinen sprechen auf den ersten Blick nicht gegen den obigen Strukturvorschlag ($\delta(\text{A,B}) \neq 0$ und $\text{J}(\text{A,X}) \neq \text{J}(\text{B,X})$). Berücksichtigt man jedoch die Konformationsabhängigkeit der $^1\text{J}(\text{C}_\alpha, \text{H})$ -Kopplungskonstanten der Phenylalanin- resp. Tyrosineinheit, so gelangt man zu einer pseudo-äquatorialen Anordnung der aromatischen Seitenketten (vgl. III. 8.5.1.)

Tabelle 27: ^1H - und ^{13}C -NMR Daten cyclischer Dipeptide (cyclo(Gly-X)).

^{13}C -Referenzsubstanzen: TMS(in $\text{d}_6\text{-DMSO}$) = 0 ppm, Dioxan(in D_2O) = 66,5 ppm.

^1H -Referenzsubstanz : TMS = 0 ppm.

Messtemperatur : 40 - 45°C.

X	Lösungsmittel	$\delta(\text{A})$ ppm	$\delta(\text{B})$ ppm	$\delta(\text{X})$ ppm	$\text{J}(\text{A}, \text{B})$ Hz	$\text{J}(\text{A}, \text{X})$ Hz	$\text{J}(\text{B}, \text{X})$ Hz
L-Leu	$\text{d}_6\text{-DMSO}$	3.64	3.82	44.30	-17.3	141.7	
L-Thr	$\text{D}_6\text{-DMSO}$	3.49	3.84	44.20	-16.9	141.6	
	D_2O	3.97	4.17	43.88	-18.4	144.1	
L-Ser	$\text{d}_6\text{-DMSO}$	3.64	3.84	44.35	-17.0	142.0	
	D_2O	4.18	4.30	43.89	-18.3	144.3	
L-Tyr	$\text{d}_6\text{-DMSO}$	2.75	3.30	43.5	-16.9	139.7	142.3
L-Phe	$\text{d}_6\text{-DMSO}$	2.80	3.37	43.7	-17.3	141.3	143.1
L-Pro	$\text{d}_6\text{-DMSO}$	3.55	3.99	45.71	-16.5	139.8	142.6
	D_2O	3.91	4.20	45.25	-17.4	141.6	145.3

Für die Glycineinheiten der untersuchten cyclo-(Gly-L-X)-Dipeptide lässt sich eine gute Korrelation zwischen $^2J(H,H)$ und $^1J(C\alpha,H)$ finden. (Wo zwei Kopplungen auftraten, wurde der Mittelwert benutzt.) Die Korrelationsgleichung (72) besitzt einen Korrelationskoeffizienten von $k = 0.92$.

$$(72) \quad ^1J(C\alpha,H) = 1.806 \quad ^2J(H,H) + 111.126$$

Bekannterweise wirken konformationsabhängige hyperkonjugative Effekte zu benachbarten C=O-Bindungen auf die $^2J(H,H)$ -Kopplungskonstante. Die gute Korrelation erlaubt den Schluss, dass auf $^1J(C\alpha,H)$ ähnliche konformative Effekte (mit demselben Vorzeichen) einwirken.

Tabelle 28 zeigt die experimentellen $^1J(C\alpha,H)$ -Kopplungskonstanten der L-Aminosäureeinheiten X.

Auffallend sind die Unterschiede der $^1J(C\alpha,H)$ -Kopplungskonstanten in D_2O und d_6 -DMSO. Diese lassen sich für cyclo-(Gly-L-Ser) und cyclo-(Gly-L-Thr) nicht allein mit dem Lösungsmittelleffekt erklären. (vgl. III.2.)

In Kapitel III.8.5.1. wird eine Konformationsanalyse der cyclischen Dipeptide aufgrund der $^1J(C\alpha,H)$ -Kopplungskonstanten durchgeführt.

Tabelle 28: Cyclische Dipeptide $\text{cyclo}(\text{Gly-X})$: $^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$ -
Kopplungskonstanten und chemische Verschie-
bungen der $\text{C}\alpha$ -Kohlenstoffe der Aminosäure-
einheiten X.

Referenzen: Dioxan (in D_2O) = 66.5 ppm,

TMS(in d_6 -DMSO) = 0 ppm.

X	Lösungsmittel	$\delta(^{13}\text{C})$ ppm	$^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$ Hz
L-Ser	D_2O	56.8	145.0
	$\sigma_{\text{C}}\text{-DMSO}$	57.24	141.6
L-Thr	D_2O	60.3	144.1
	$\text{d}_6\text{-DMSO}$	60.54	141.6
L-Phe	$\text{d}_6\text{-DMSO}$	55.5	144.0
L-Tyr	$\text{d}_6\text{-DMSO}$	55.8	144.0
L-Leu	$\text{d}_6\text{-DMSO}$	52.9	142.8
L-Pro	D_2O	58.52	143.5
	$\text{d}_6\text{-DMSO}$	57.92	141.0

8.3. Tetrapeptide

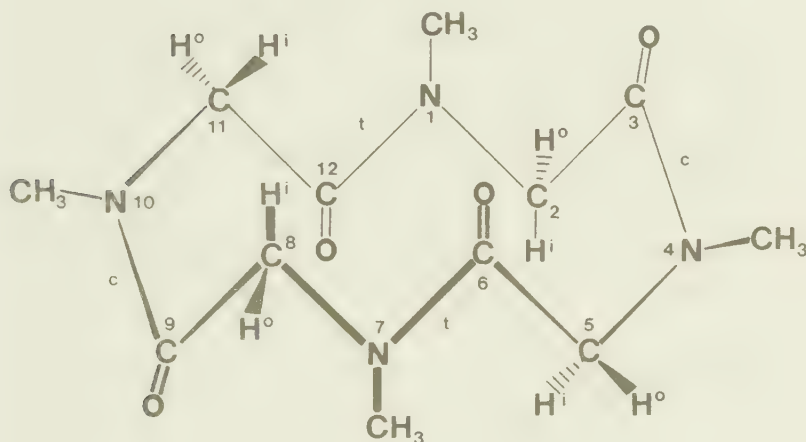
Es wurden zwei cyclische Tetrapeptide mit stark verwandter Struktur untersucht: cyclo-Tetrasarcosyl und cyclo(Gly-L-Pro)₂

8.3.1. Cyclotetrasarcosyl

Für Cyclotetrasarcosyl ergab die Röntgenstrukturanalyse die Anwesenheit eines Inversionszentrums¹⁰⁹, und einer "cis-trans-cis-trans" Amidsequenz. Im ¹³C-Spektrum findet man zwei verschiedene chemische Verschiebungen für die Methylenkohlenstoffe. Das Protonenspektrum zeigt vier verschiedene ¹H-Signale für die diastereotopen Methylenprotonen. ($\delta(A,B) \neq 0$)

Die NMR-Spektren stehen im Einklang mit der Symmetrie im Festkörper.^{54,115} Für die vermutlich auch in Lösung recht starr Molekel können vier verschiedene ¹J(C α ,H)-Kopplungskonstanten erwartet werden. Tatsächlich zeigt die Methylenresonanz bei 52.0 ppm zwei Kopplungskonstanten gleicher Grösse ($J(A,X) = J(B,X) = 138.2$ Hz), während die andere Methylenresonanz bei 49.9 ppm zwei völlig verschiedene Kopplungskonstanten liefert ($J(A,X) \neq J(B,X)$) (137.5 und 150.0 Hz). Die Korrelation der ¹³C-chemischen Verschiebungen und der ¹J(C α ,H)-Kopplungskonstanten mit den vier ¹H-Shifts und mit den zwei geminalen ²J(H,H)-Kopplungskonstanten (-18 Hz und -14 Hz) wurde durch eine Serie von off-resonance Entkopplungsexperimenten herbeigeführt. Basierend auf der Zuordnung der Protonenshifts durch Dale und Titlestad¹¹⁰ muss das ¹³C-Signal bei 52 ppm den C(5)- und C(11)-Kohlenstoffatomen, dasjenige bei 49.9 ppm den C(2)- und C(8)-Kohlenstoffatomen zugeordnet werden. (Figur 28) Ferner können die diastereotopen Methylenprotonen Hⁱ und H^o (Figur 29) an C(2), C(8) resp. C(5), C(11) über die ¹H-chemischen Verschiebungen mit den ¹J(C α ,H)-Kopplungskonstanten korreliert werden.

Figur 28: Cyclotetrasarcosyl: Struktur basierend auf Röntgenstrukturanalyse, ^1H und ^{13}C -NMR-Spektroskopie.



Diese Zuordnung der $^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$ -Kopplungskonstanten wird durch die vicinalen C,H-Kopplungskonstanten zwischen dem N-Methylkohlenstoff und den diastereotopen Methylenprotonen bestätigt.

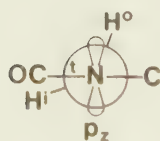
In Tabelle 29 sind die ^{13}C -chemischen Verschiebungen und die C,H-Kopplungskonstanten für $\text{cyclo}(\text{Sar})_4$ dargestellt. Figur 29 gibt anhand von Newman Projektionen den Bezug von $^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$ zu den Torsionswinkeln Φ und Ψ (resp. zu Φ' und Ψ')

Tabelle 29: ^{13}C -NMR Daten von cyclo-Tetrasarcosyl (in CDCl_3 mit $< 5\%$ TFA bei 30°C)

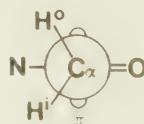
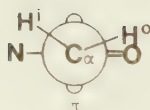
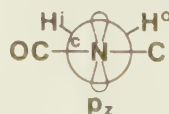
	12, 13	15, 16	17, 18
$\delta(\text{C}\alpha)$	49.9 ppm	52.0 ppm	52.0 ppm
$^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$	137.5 Hz	150.0 Hz	138.2 Hz
$^3\text{J}(\text{C}\alpha\text{H}, \text{CH}_3)$	6.3 Hz	1.6 Hz	4.0 Hz
$^3\text{J}(\text{C}\alpha, \text{CH}_3)$	3.0 Hz		3.0 Hz
$^2\text{J}(\text{H}, \text{H})$	-14.0 Hz		-18.0 Hz

Figur 29: Segmentale Konformation der Cyclotetrasarcosyle

C 2/8



C 5/11



$$^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H}^o) = 150.0 \text{ Hz}$$

$$^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H}^i) = 137.5 \text{ Hz}$$

$$^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H}^o) = 138.2 \text{ Hz}$$

$$^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H}^i) = 138.2 \text{ Hz}$$

8.3.2. Cyclo(Gly-L-Pro)₂

Blout et al.¹¹¹ fanden anhand von ¹³C-NMR-Messungen, dass in cyclo(Gly-L-Pro)₂ ebenfalls wie in cyclo(Sar)₄ die Amidsequenz "cis-trans-cis-trans" auftritt. Die bezüglich der cis- und trans-Isomerie in Amiden empfindliche Prolin Cy-Resonanz lässt auf eine cis-Amidbindung zwischen den Carboxylgruppen von Glycin und den Aminogruppen des Prolins schliessen. Im Gegensatz zu cyclo(Sar)₄ werden für cyclo(Gly-L-Pro)₂ Koaleszenzphänomene beobachtet, welche mit der Ausbildung unsymmetrischer Konformationen (Drehung um Φ und Ψ) erklärt wurden.¹¹¹ Bei 70° C wird die intermolekulare Beweglichkeit schnell im Vergleich zur NMR-Zeitskala, sodass die Signale beider Prolin- resp. Glycin-einheiten zusammenfallen.

In Figur 30 ist die Struktur von cyclo(Gly-L-Pro)₂ dargestellt. Die ¹³C-chemischen Verschiebungen und ¹J(C α ,H)-Kopplungskonstanten (Tabelle 30) zeigen, dass keine vollständige Drehung der trans-Amidsysteme um die entsprechenden Torsionswinkel Φ und Ψ eintritt. Bei einer solchen Rotation um 360° (resp. ein Vielfaches davon) müssten ähnliche Werte für ¹J(C α ,Hⁱ) und ¹J(C α ,H^o) gemessen werden. Die Werte sollten dann denjenigen in offenkettigen Peptiden ähnlich sein. (vgl. III.8.1.) Indessen treten im Glycinteil von cyclo(Gly-L-Pro)₂ stark verschiedene Kopplungskonstanten auf.

Tabelle 30: ¹³C-NMR Daten von cyclo(Gly-L-Pro)₂ in D₂O bei 80°C. Referenz: Dioxan = 66.5 ppm

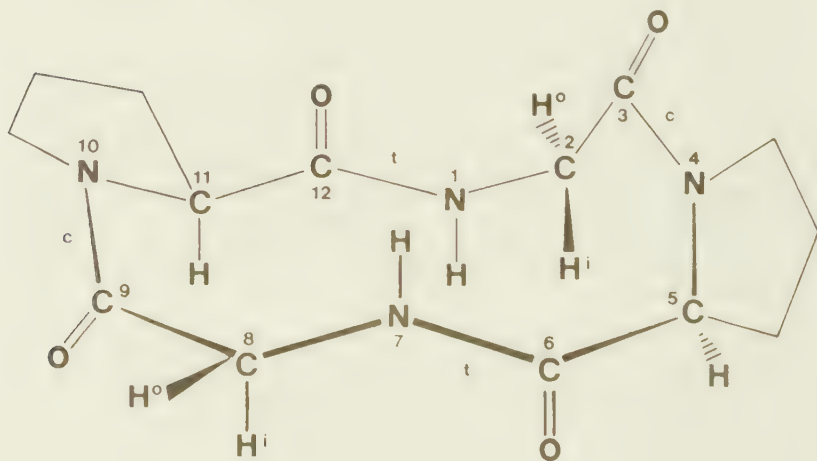
	Gly C2, C8	Pro C5, C11
$\delta(C\alpha)$	44.47 ppm	60.52 ppm
¹ J(C α ,H)	135.8 Hz	149.2 Hz

Die Analogie zu den $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten in Cyclo-tetrasarcosyl ist offensichtlich. Für C2/C8 in cyclo(Gly-L-Pro) $_2$ kann dieselbe segmentale Konformation angenommen werden wie bei Cyclotetrasarcosyl (vgl. Figur 29).

Aufgrund von Betrachtungen an raumerfüllenden Molekülmodellen (CPK-Kalottenmodell) ist die Lage der C(5,11)-H-Bindung der Prolineinheiten ungefähr koplanar mit dem p_z -Orbital am Stickstoff (4,10) und senkrecht zum benachbarten π -System der CO-Gruppe (C6, C12).

Die gemessene $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstante von 150,8 Hz entspricht dem für obige Struktur erwarteten hohen Wert (Figur 30).

Figur 30: Struktur von cyclo(Gly-L-Pro) $_2$.



8.4. Ermittlung der Funktion $^1J(\phi', \psi')$

Mit Hilfe der Diketopiperazine und der cyclischen Tetrapeptide gelingt es, eine experimentelle Beziehung für die Abhängigkeit von $^1J(C\alpha, H)$ von den Winkeln ϕ' und ψ' zu formulieren (vgl. Figur 31).

Um das Verhalten der $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten in Abhängigkeit von den Torsionswinkeln näherungsweise zu beschreiben, wird die einfachste mögliche Beziehung (73) vom Typ (33) gewählt.

$$(73) \quad ^1J(C\alpha, H) = A + B \cos^2 \phi' + C \cos^2 \psi'$$

Es handelt sich bei (73) möglicherweise nicht um die beste Näherung für die Torsionswinkelabhängigkeit von $^1J(C\alpha, H)$. Quantentheoretische Rechnungen könnten hier eine physikalisch fundierte Beziehung liefern. Gleichung (73) soll jedoch den in Kapitel I.2.3. aufgestellten Kriterien einer experimentellen Beziehung genügen, d.h. sie soll für alle weiteren untersuchten Peptide überprüfbar richtige Aussagen erlauben.

Die Ermittlung der Konstanten A, B und C gelingt dann, wenn der Satz experimenteller Kopplungen $^1J(C\alpha, H)$ und Winkel ϕ' und ψ' zu lösbarer Gleichungssystemen führt.

Es zeigt sich, dass die $C\alpha, H$ -Kopplungen der Glycineinheiten in cyclo(Gly-L-Pro) und cyclo(Gly-L-Pro)₂ die benötigten Gleichungen und ein lösbares Gleichungssystem liefern. Die Gleichungen (74) und (75) wurden aus dem cyclischen Tetrapeptid, Gleichung (76) aus der Wannenkonformation des Dipeptids hergeleitet.

$$(74) \quad ^1J = 135.8 = A + B \cos^2 110^\circ + C \cos^2 50^\circ$$

$$(75) \quad ^1J = 149.2 = A + B \cos^2 10^\circ + C \cos^2 70^\circ$$

$$(76) \quad ^1J = 145.2 = A + B \cos^2 0^\circ + C \cos^2 0^\circ$$

Die experimentelle Gleichung für $^1J(C\alpha, H)$ der in D_2O gelösten Glycyl-Prolin Peptide nimmt damit die Form (77) an.

$$(77) \quad ^1J(\phi', \psi') = 136.2 + 14.0 \cos^2 \phi' - 4.9 \cos^2 \psi' \quad (\text{Hz})$$

Für die diastereotopen Methylengruppen in $\text{cyclo}(\text{Sar})_4$ erhält man mit den Kopplungskonstanten aus Tabelle 29 und den in Figur 29 dargestellten Winkeln ϕ' und ψ' ein Gleichungssystem, welches ähnliche Konstanten A, B und C liefert wie Gleichung (77) ($A = 137.3$, $B = 13.5$, $C = -3.3$ Hz).

Es ist möglich, A für isotrope Rotationen um Φ und Ψ abzuschätzen. Dazu wird von der konformationsgemittelten Kopplungskonstanten J ausgegangen. Diese kann experimentell aus offenkettigen Peptiden oder mit Hilfe der neuen Malinowski-Inkrementen für Peptide ermittelt werden.

Gleichung (73) kann über den Bereich von $0 - 2\pi$ integriert werden, und man erhält den Zusammenhang (78) für eine "isotrop" gemittelte Kopplungskonstante.

$$(78) \quad J = A + (B + C)/2 \quad (\text{Hz})$$

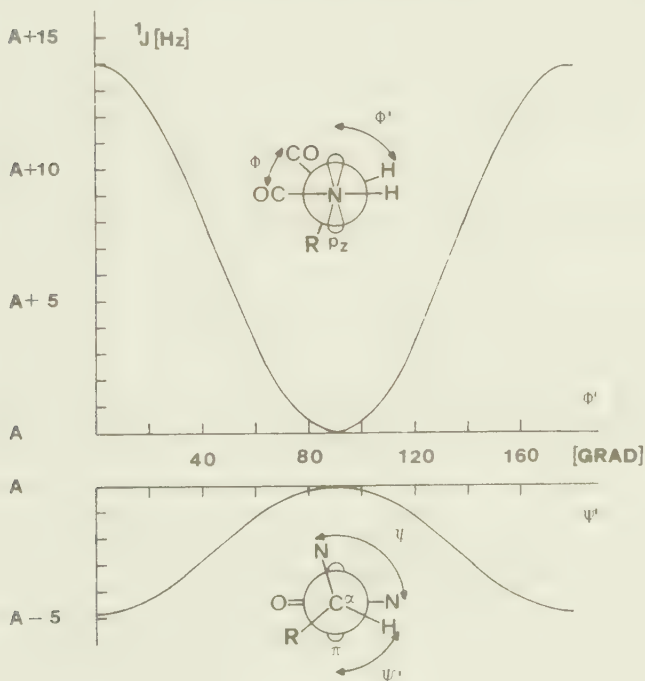
Für Glycyleinheiten offenkettiger Peptide gelangt man durch Umformung und Einsetzen der Konstanten B und C aus Gleichung (77) zu der Beziehung (79) für den konstitutionellen Anteil A an die Kopplungskonstante.

$$(79) \quad A = J - 4.6 \quad (\text{Hz})$$

Gleichung (79) wird in Kapitel III. 8.5.1 dazu verwendet, die konstitutionellen Anteile A für die beiden Aminosäureeinheiten in Diketopiperazinen abzuschätzen. Die Differenz zwischen der gemessenen Kopplungskonstanten J und A, $(J-A)$, wird als konformationeller Beitrag zur Kopplungskonstante interpretiert. Diese Hilfsgrösse wird zur Konformationsanalyse herbeigezogen.

In Figur 31 ist die Abhängigkeit von $^1J(C\alpha, H)$ von Φ' und Ψ' für das System Gly-L-Pro grafisch dargestellt. Um $^1J(C\alpha, H)$ für eine bestimmte Kombination für Φ' und Ψ' zu berechnen, müssen die Beiträge der beiden Funktionen zu A addiert werden.

Figur 31: Abhängigkeit von $^1J(C\alpha, H)$ von $\Phi'(\Phi)$ und $\Psi'(\Psi)$.



Für Diketopiperazine in der planaren resp. einer Wannenkonformation ergibt sich eine Vereinfachung der Beziehung (77), da Φ' und Ψ' identisch sind. (Gleichung (80))

$$(80) \quad J = A + (B + C) \cos^2 \varphi$$

$$\varphi = \Phi' = \Psi'$$

8.5. Bestätigung der Beziehung für $^1J(\Phi', \Psi')$

Unter der Annahme, dass die exemplarisch an den Tetrapeptiden hergeleitete Beziehung (77) auf beliebige Peptide anwendbar sei, wurden Konformationsanalysen in cyclischen Dipeptiden, Hexapeptiden und in Octasarcosyl durchgeführt. Die Resultate werden mit bekannten strukturellen Daten verglichen. Allgemein wird eine sehr gute Uebereinstimmung festgestellt.

8.5.1. Cyclische Dipeptide

Für einige Diketopiperazine (Tabellen 27 und 28) konnten aufgrund ihrer Löslichkeit die ^{13}C -Spektren nur in d_6 -DMSO gemessen werden (cyclo(Gly-L-Leu), cyclo(Gly-L-Phe) und cyclo(Gly-L-Tyr)). Nach Möglichkeit wurde jedoch zusätzlich D_2O als Lösungsmittel verwendet (cyclo(Gly-L-Ser), cyclo(Gly-L-Thr), cyclo(Gly-L-Pro)).

Die Untersuchungen der Lösungsmittelleffekte (vgl. III.2.) zeigen, dass in d_6 -DMSO 1.3 bis 1.8 Hz kleinere $^1J(\text{C}\alpha, \text{H})$ -Kopplungskonstanten gemessen werden als in D_2O . Die Berechnung des konstitutionellen Beitrags A zu $^1J(\text{C}\alpha, \text{H})$ ist für die folgenden Ueberlegungen zur Konformationsanalyse in Diketopiperazinen wichtig. A lässt sich aus Gleichung (79) ermitteln. Dabei kann die in (79) eingesetzte Kopplungskonstante aus einem offenkettigen Peptid stammen oder mit Malinowski-Inkrementen ζ berechnet werden. In beiden Fällen muss die Lösungsmittelabhängigkeit von $^1J(\text{C}\alpha, \text{H})$ berücksichtigt werden. Da die Malinowski-Inkmente ζ zur Ermittlung von $^1J(\text{C}\alpha, \text{H})$ in D_2O ermittelt wurden, beziehen sich die mit dieser Methode berechneten Kopplungskonstanten auf Lösungen in D_2O . Um zu einem korri-

gierten Wert von $^1J(C\alpha, H)$ in d_6 -DMSO zu kommen, wird in den folgenden Ueberlegungen vom berechneten $^1J(\zeta)$ jeweils der Betrag von 1.6 Hz subtrahiert.

Cyclo(Gly-L-Leu)

In d_6 -DMSO wird im Glycinteil nur eine einzige $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstante gemessen. Das 1H -Spektrum der Methylenprotonen entspricht jedoch einem AB-System ($\delta(A, B) \neq 0$, $J(A, X) = J(B, X) = 141.7$ Hz). Die 1H - und ^{13}C -NMR-Messwerte lassen sich entsprechend der Variante (43a) (vgl. III.1.1.4.) mit einem planaren Diketopiperazinring oder einem Wanne-Wanne Gleichgewicht erklären. Es soll in der Folge versucht werden, aufgrund des Messwertes von $^1J(C\alpha, H)$ eine Entscheidung zugunsten der einen oder anderen Möglichkeit zu finden.

Für einen hypothetisch starren Diketopiperazinring ($\phi' = \psi' = 30^\circ$) berechnet man mit $A = 136.2$ Hz und Gleichung (80) eine Kopplungskonstante von 143.0 Hz. Die Berücksichtigung des Lösungsmittelleffektes führt zu einer berechneten $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstante von 141.4 Hz für einen planaren Diketopiperazinring.

Für ein hypothetisches Konformationsgleichgewicht zweier ausgeprägter Wannenkongformationen ergibt sich mit den Gleichungen (43a) und (80) eine Kopplung von 141.9 Hz, welche nach der Korrektur für das Lösungsmittel noch ca. 140.3 Hz beträgt.

Der Vergleich experimenteller und berechneter Kopplungskonstanten zeigt gute Uebereinstimmung mit einem hypothetisch planaren Glycinteil im Diketopiperazinring. Im Rahmen der

Messgenauigkeit von ± 0.5 Hz für die $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten und unter Berücksichtigung der zahlreichen Annahmen, welche zu den berechneten Kopplungskonstanten in d_6 -DMSO führten, ist eine endgültige Entscheidung für die eine oder andere Möglichkeit (planarer Ring resp. Gleichgewicht Wanne-Wanne) jedoch etwas willkürlich.

Im Leucinteil wird mit der Beziehung (79) ein konstitutioneller Beitrag A von 137.7 Hz in D_2O resp. 136.1 Hz in d_6 -DMSO berechnet. (In der Berechnung von $J(\zeta)$ wurde das nicht tabellierte Malinowski-Inkrement ζ für die Leucin-Seitenkette durch $(-CH_3) = 42.6$ Hz ersetzt.) Die für den Leucinteil in d_6 -DMSO ermittelte $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstante von 142.8 Hz enthält demzufolge einen konformationellen Anteil von 6.7 Hz. ($\approx (B+C) \cos^2\varphi$). Daraus lässt sich für einen hypothetisch starren Diketopiperazinring ein Winkel φ (in Leucin) von 30° abschätzen.

Unter der Annahme eines Gleichgewichts zweier ausgeprägter Wannenkonformationen ergibt sich für $^1J(C\alpha, H)$ im Leucinteil eine konformationell gemittelte Kopplungskonstante von 141.1 Hz.

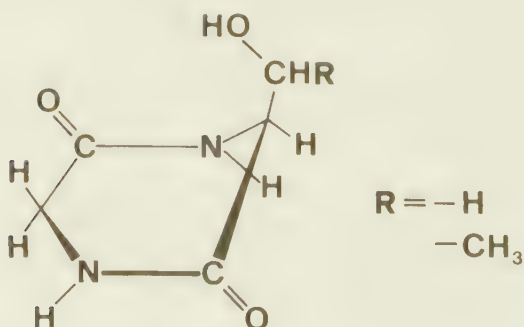
Die Kopplungskonstante im Leucinteil erlaubt eine Entscheidung zugunsten des planaren Diketopiperazinrings. Dieser Strukturvorschlag steht mit den Aussagen der Kopplungskonstanten der Glycin-Methylengruppe im Einklang.

In Figur 32 ist ein Strukturvorschlag für den Fall eines starren Rings dargestellt.

quantitative Behandlung der $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten des Serinteils erfolgen. A wird unter Berücksichtigung des Lösungsmittels d_6 -DMSO zu 137.0 Hz berechnet. Die Differenz zwischen der experimentellen Kopplungskonstanten von 141.6 Hz und $A = 137.0$ Hz ergibt einen Konformationsanteil von 4.6 Hz. Mit Gleichung (80) lässt sich für einen hypothetisch starren Diketopiperazinring ein Winkel φ von 45° berechnen. Die Serinseitenkette nimmt in einer starren Konformation eine pseudo-axiale Lage an einer ausgeflachten Wanne ein.

Für ein hypothetisches Gleichgewicht zweier Wannenkonformationen berechnet man eine gemittelte Kopplungskonstante von 142.7 Hz. Dieser berechnete Wert schliesst die Variante eines ausgeprägten Gleichgewichtes aus. In Analogie zu cyclo(Gly-L-Leu) kann in cyclo(Gly-L-Ser) ein ausgeflachter Glycinteil erwartet werden. Der Serinteil des Diketopiperazinrings ist hingegen leicht abgewinkelt. In Figur 33 wird ein Strukturvorschlag für cyclo(Gly-L-Ser) und cyclo(Gly-L-Thr) in d_6 -DMSO vorgestellt.

Figur 33: Strukturvorschläge für cyclo(Gly-L-Ser) und cyclo(Gly-L-Thr) in d_6 -DMSO bei $40^\circ C$.



In D_2O werden wesentlich höhere Kopplungskonstanten als in d_6 -DMSO gemessen (cyclo(Gly-L-Ser): 144.3 Hz für Glycin, 145.0 Hz für Serin; cyclo(Gly-L-Thr): 144.1 Hz für Glycin, 144.1 Hz für Threonin). Die Abweichungen zu den Werten in d_6 -DMSO sind höher als aufgrund der Lösungsmittelleffekte zu erwarten wäre.

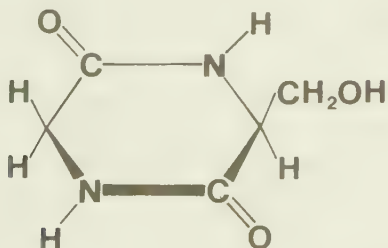
Nimmt man eine planare Anordnung der Glycineinheit im Diketo-piperazinring an, so wird mit $A = 136.8$ Hz für $\varphi = 30^\circ$ eine Kopplungskonstante von 143.0 Hz berechnet. Der gemessene Wert (144.3 Hz) ist mit einer zumindest statistisch gemittelten planaren Anordnung der Glycineinheit verträglich.

Für die Serineinheit wird mit $A = 138.6$ Hz ein Winkel $\varphi = 33^\circ$ berechnet. Dies bedeutet, dass die Serineinheit ebenfalls planar angeordnet ist.

In Figur 34 ist der Strukturvorschlag für cyclo(Gly-L-Ser) in D_2O dargestellt.

Die Ursache der schwachen Strukturänderung in D_2O im Vergleich zu d_6 -DMSO, kann in der Ausbildung von Wasserstoffbrücken zur Hydroxylgruppe der Serin- resp. Threoninseitenkette gesehen werden. Die pseudo-axiale Lage der Serinseitenkette in d_6 -DMSO wird durch die Verknüpfung der Hydroxylgruppe mit dem Lösungsmittel in D_2O offenbar verunmöglicht.

Figur 34: Konformation von cyclo(Gly-L-Ser) in D_2O .



Cyclo(Gly-L-Phe) und cyclo(Gly-L-Thr)

Für die Glycineinheiten ($\delta(A,B) \neq 0$) wurden in d_6 -DMSO verschiedene Kopplungen $J(A,X)$ und $J(B,X)$ gemessen (Cyclo(Gly-L-Phe): 143.1 und 141.3 Hz, cyclo(Gly-L-Tyr): 139.7 und 142.3 Hz). Für die Phenylalanin- und Tyrosineinheiten wurden $^1J(C\alpha,H)$ -Kopplungen von je 144.0 Hz gemessen. Die Werte für die Glycineinheiten können mit einer unsymmetrischen Inversion der geknickten Glycintteile (Drehung um Φ und Ψ) in einem Konformationsgleichgewicht erklärt werden.

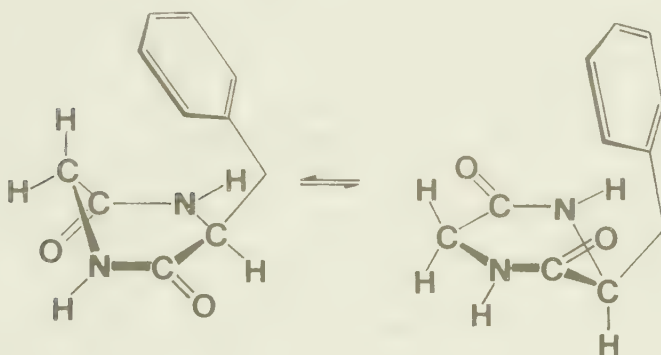
Die ^{13}C -Signale der $C\alpha$ -Atome, welche die aromatischen Reste tragen, ergeben grosse C,H-Kopplungskonstanten (je 144 Hz). Mit $A = 136.1$ Hz ergibt sich damit ein konformationeller Beitrag von 7.9 Hz an die Kopplung. Mit Gleichung (80) kann ein Winkel $\phi = 20^\circ$ berechnet werden. Dies muss dahin interpretiert werden, dass der aromatische Rest in beiden Diketopiperazinen pseudo-äquatorial steht.

Für hypothetisch starre Konformationen ergeben sich aus den Kopplungskonstanten der Glycineinheiten Winkel ϕ von $20-30^\circ$ resp. von $35-45^\circ$ für die C,H-Bindungen zu den diastereotopen Methylenprotonen. Die Glycineinheiten sind demzufolge schwach abgelenkt.

Nimmt man ein Konformerengleichgewicht an, so sind die beiden in Figur 35 dargestellten Konformere mit obigen Resultaten im Einklang. Die mittlere Lage der Atome in beiden Konformeren entspricht der oben ermittelten Ringkonformation hypothetisch starrer Moleküle.

Deslauriers¹⁰⁴ schlug jedoch für die aromatischen Diketopiperazine eine Wanne vor, welche axiale Seitenketten in einer "flagpole-boat" Position aufweist. Die dafür ins Feld geführte Beschirmung der einen Protonenresonanz aufgrund des aromatischen Ringstromeffekts ist jedoch auch mit einem Konformerengleichgewicht zwischen Wanne und Halbsesselkonformation im Einklang.

Figur 35: Konformation von cyclo(Gly-L-Phe) und cyclo(Gly-L-Tyr) in d_6 -DMSO.



Cyclo(Gly-L-Pro)

Modelle (CPK-Kalottenmodell, Dreidingmodell) weisen darauf hin, dass der Diketopiperazinring in eine Wannenkonformation gezwungen ist. Dies entspricht der durch Röntgenstrukturanalyse am Kristall festgestellten Konformation.¹⁰⁸

Allerdings kann durch Verformung am Modell eine Ausflachung des Diketopiperazinrings erreicht werden. Die planare Konformation ist jedoch sehr gespannt. In diesem Zusammenhang muss auf die Arbeit von Siemion hingewiesen werden, der aufgrund chemischer Verschiebungen der Prolinkohlenstoffatome in einem Konformationsgleichgewicht ein eher unwahrscheinliches Verhältnis Wanne zu planarer Form von 1:1 postulierte.¹⁰⁶

Die $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstanten in d_6 -DMSO (139.8 und 142.6 Hz für den Glycinteil und 141.0 Hz für die Prolineinheit) lassen sich unter Berücksichtigung des Lösungsmittelleffekts (+1-(+2)Hz), (vgl. III.2.) am besten mit einer eventuell leicht ausgeflachten Wanne erklären. Die Informationen der Spektrenanalyse für das ABX-System der Glycineinheit stehen mit obiger Aussage im Einklang ($\delta(A, B) \neq 0$, $J(A, X) \neq J(B, X)$).

Für die Glycineinheiten wurden in d_6 -DMSO mit $A = 135.3$ Hz Winkel $\phi = 45^\circ$ und 26° berechnet. Für die Prolineinheit ergibt sich mit $A = 134.8$ Hz ein Winkel $\phi = 34^\circ$. Diese Winkel entsprechen einer leicht ausgeflachten Wannenkonformation des Diketopiperazinrings.

In D_2O betragen die Winkel ϕ 44° und 16° ($A = 136.9$ Hz) für die Glycineinheit. Die Prolineinheit ergibt mit $A = 136.4$ Hz einen Winkel ϕ von 28° . Diese Daten stimmen sehr gut mit der vorgeschlagenen fixierten Wannenkonformation überein. Zudem wird der Valenzwinkel (120° in der Newmanprojektion) zwischen den Methylenprotonen gut reproduziert.

Der für eine starre Wanne etwas zu niedrige Wert der $^1J(C\alpha, H)$ -Kopplungskonstante (143.5 Hz) in Prolin lässt sich auf die Pitzerspannung im Prolinring zurückführen. Am Molekülmodell lässt sich zeigen, dass die Minimierung der Pitzerspannung zu einer Torsion des Winkels der Prolineinheit führt. Auf diese Weise entfernt sich die $C\alpha, H$ -Bindung aus dem Bereich optimaler Hyperkonjugation mit den beiden benachbarten Amidsystemen. Die Konsequenz ist eine Abweichung der Kopplungskonstanten vom optimalen Wert. (145 Hz.)

Cyclo(Sar)₂ und cyclo(Gly)₂

Cyclo(Sar)₂ besitzt in D₂O eine ¹J(C α ,H)-Kopplungskonstante von 144.2 Hz (143.9 Hz in CDCl₃). Das in Benzol gemessene Dipolmoment von 1.13 D¹¹⁹ schliesst eine planare- oder eine Sesselkonformation aus. Nimmt man eine Wannenkonformation an, so ergibt sich aufgrund der C,H-Kopplungskonstanten der Methylen-Gruppe (Triplett) ein Gleichgewicht ausgeflachter Wannenkonformationen (vgl. Röntgenstrukturanalyse: ausgeflachter Sessel¹¹²).

¹J(C α ,H) in cyclo(Gly)₂ konnte wegen Löslichkeitsproblemen nur in TFA gemessen werden (146.1 Hz). Die hohe Kopplungskonstante ist vermutlich auf den Lösungsmiteleinfluss zurückzuführen und lässt wie für cyclo(Sar)₂ eine ausgeflachte Ringkonformation erwarten.

Zusammenfassung

Für cyclo(Sar)₂ und cyclo(Gly)₂ ($\delta(A,B) = 0$) erlaubt Gleichung (80) eine Unterscheidung ausgeflachter Ringe (in D₂O: 143-144 Hz) von einem Konformerengleichgewicht stark ausgeprägter Wannen (in D₂O: 142 Hz). Hingegen kann zwischen starren planaren Ringen und beweglichen, statistisch planaren ausgeflachten Wannenkonformationen nicht unterschieden werden.

Glycinhaltige Diketopiperazine mit $\delta(A,B) \neq 0$ und $J(A,X) = J(B,X)$, z.B. cyclo(Gly-L-Leu) und cyclo(Gly-L-Ser) besitzen ausgeflachte bis planare Diketopiperazintringe. Für cyclo(Gly-L-Ser) in d₆-DMSO wird aufgrund der Kopplungskonstante der Serinseinheit eine schwache Knickung des Rings ermittelt. Die Serinseitenkette steht pseudo-axial bezüglich der Wanne. Diese Strukturaussagen auf der Basis von ¹J(C α ,H) stimmen recht gut mit bekannten Daten überein.

Diastereotope Methylenprotonen mit $J(A,X) \neq J(B,X)$ bieten die Möglichkeit mit den Gleichungen (79) und (80) für einen hypothetisch starren Ring Winkel φ zu berechnen. Ob die Hypothese eines starren Rings sich als richtig erweist, kann durch Vergleichen der berechneten Winkel φ für die beiden Aminosäureeinheiten des Diketopiperazins entschieden werden. Wird für die Glycineinheit kein Winkel φ in Übereinstimmung mit dem an der zweiten Aminosäureeinheit ermittelten Wert gefunden, so darf angenommen werden, dass die Hypothese falsch war. Als Alternativlösung bietet sich nur ein Gleichgewicht zwischen verschiedenen Konformeren an (vgl. cyclo(Gly-L-Phe) und cyclo(Gly-L-Tyr)). Findet man hingegen übereinstimmende Winkel φ für die beiden Aminosäureeinheiten und wird der H-C-H-Valenzwinkel der Glycineinheit (120° in der Newman-Projektion) gut reproduziert, so handelt es sich um einen starren Ring (vgl. cyclo(Gly-L-Pro)).

Es fällt auf, dass die aus $^1J(C\alpha,H)$ -Werten hergeleiteten Strukturvorschläge oft eine schwache Torsion der Amidbindung implizieren. Diese Feststellung ist gut mit der in aromatischen Diketopiperazinen (z.B. cyclo(Gly-L-Phe)) festgestellten höheren internen Beweglichkeit der $C\alpha$ -Methylengruppe in Einklang zu bringen.¹⁰⁴ In diesem Zusammenhang kann auch auf die Torsion der Amidbindung in cyclo(Sar-L-Val)¹⁰⁷ und jene in kristallinem cyclo(Sar)₂ hingewiesen werden.¹¹²

8.5.2. Cyclische Hexapeptide

Cyclo(GAG)₂, cyclo(AaG)₂ und cyclo(aaAaAA)¹¹³

Die im Titel verwendeten Abkürzungen für die cycloenantiomeren Hexapeptide (Gly = G, L-Ala = A und D-Ala = a) werden in der folgenden Diskussion beibehalten.

Iseli¹¹⁴ bestätigte mit CD-Messungen (bis 170 nm) für die untersuchten Hexapeptide annähernde Faltblattstrukturen mit zwei β -Biegungen (β -turns).^{115,116} Regeln zur Konformationsanalyse in cyclischen Glycyl-Oligopeptiden besagen, dass mit Vorteil in den Glycineinheiten β -turns ausgebildet werden. Für Hexapeptide mit D-Alanin und L-Alanin ist der wahrscheinlichste Ort der β -Biegung bei den gemischten Sequenzen DL und LD zu erwarten.¹¹⁷

Die Stabilisierung der Ringkonformation geschieht durch zwei intramolekulare Wasserstoffbrücken. In der vorgeschlagenen Konformation für die Cyclohexapeptide besitzen alle Amidbindungen die transoide Konfiguration. Aufgrund der Messung der sehr kleinen optischen Aktivität, wird für cyclo(GAG)₂ näherungsweise C_i-Symmetrie angenommen. Cyclo(aaAaAA) und cyclo(AaG)₂ besitzen grössere Drehwerte für polarisiertes Licht. Demzufolge wird diesen Molekülen näherungsweise C₂-Symmetrie zukommen.^{114,117}

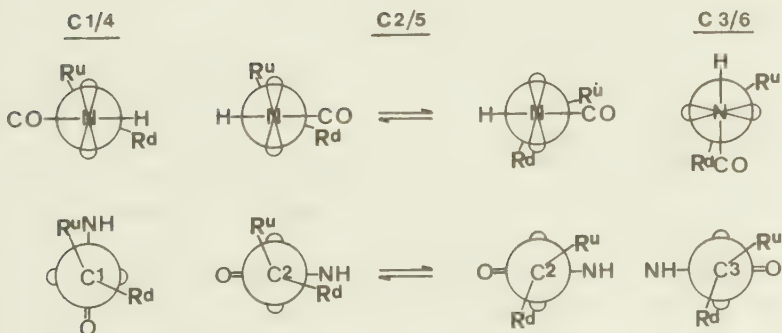
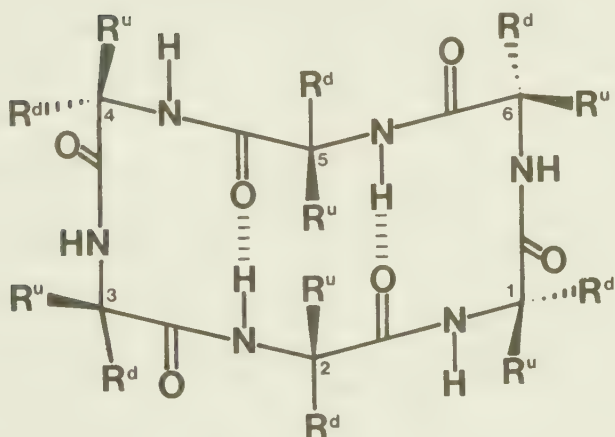
In Tabelle 31 sind die chemischen Verschiebungen $\delta(\text{Ca})$ und die ¹J(C α ,H)-Kopplungskonstanten (in D₂O) zusammengetragen. Die ¹³C-Spektren von cyclo(GAG)₂ und cyclo(AaG)₂ zeigen drei C α -Resonanzen. Dies steht im Einklang mit der vorgeschlagenen C_i- resp. C₂-Symmetrie. Das Spektrum des unsymmetrischen cyclischen Hexapeptides cyclo(aaAaAA) zeigt in Abweichung von der vermuteten Symmetrie sechs C α -Signale, d.h. für jede Aminosäureeinheit ein Signal. Dies bedeutet, dass eine gestörte C_i-Symmetrie vorliegt.

Mit Hilfe von Molekülmodellen und Gleichung (77) werden die ¹J(C α ,H)-Kopplungskonstanten den C α -Atomen zugeordnet (Tabelle 31). Die auf diese Weise erhaltene Zuordnung der C α -Resonanzen zu den C α -Atomen passt harmonisch in die Gruppierung der C α -Atome (C1/C4, C2/C5, C3/C6) aufgrund der Molekülsymmetrie.

Raumerfüllende Molekülmodelle der Hexapeptide zeigen, dass zwei "Faltblatt-Wannen" denkbar sind. Die Umwandlung einer dieser Wannen in ihr Gegenstück bewirkt für die C,H-Bindungen an $\text{Ca}(2)$ und $\text{Ca}(5)$ ähnliche konformationelle Änderungen, wie sie in Diketopiperazinen gefunden werden (Figur 36). In $\text{cyclo}(\text{GAG})_2$ betragen die $^1\text{J}(\text{Ca},\text{H})$ -Kopplungskonstanten für $\text{Ca}(2)/\text{Ca}(5)$ 143,1 Hz. Dies entspricht dem Wert für planare Ringe oder Gleichgewichte ausgeflachter Wannen ($\text{cyclo}(\text{Sar})_2$: 143,5 Hz). Für $\text{cyclo}(\text{AaG})_2$ und $\text{cyclo}(\text{aaAaAA})$ steigen die Kopplungen für $\text{Ca}(2)/\text{Ca}(5)$ auf 144,8 - 145,5 Hz an. Aus den Diketopiperazinen ist bekannt, dass ein Wert von ca. 145 Hz für eine axiale C,H-Bindung mit optimaler Hyperkonjugation zu beiden benachbarten π -Amidsystemen auftritt. Für die Hexapeptide bedeutet dies, dass sich das Konformationsgleichgewicht nach derjenigen Faltblattkonformation hin verschiebt, welche periplanare Anordnung der Ca,H -Bindung an $\text{Ca}(2)/\text{Ca}(5)$ relativ zum p_z -Orbital am Stickstoff und zum π -System der CO-Gruppe aufzeigt. An den Newman-Projektionen (Figur 36) können die diskutierten hyperkonjugativen Effekte für $\text{Ca}(2)/(5)$ nachvollzogen werden.

Die Amidbindungen zwischen $\text{Ca}(1)/\text{Ca}(6)$ und $\text{Ca}(3)/\text{Ca}(4)$ sind in ihrer Beweglichkeit nicht durch H-Brücken eingeschränkt. Dies bewirkt eine Ähnlichkeit zu den offenkettigen Peptiden. Die Spektrenanalyse für die Methylengruppen im β -turn ergibt für die glycinhaltigen Hexapeptide: $\delta(\text{A},\text{B}) = 0$ und damit $J = 1/2(J(\text{A},\text{X}) + J(\text{B},\text{X}))$. Die Grösse der gemessenen $^1\text{J}(\text{Ca},\text{H})$ -Kopplungskonstanten liegt für die Glycineinheiten zwischen 141,3 und 141,9 Hz. Dies entspricht annähernd den Werten offenkettiger Peptide.

Figur 36: Faltblattstruktur der Hexapeptide $\text{cyclo}(\text{GAG})_2$, $\text{cyclo}(\text{AaG})_2$ und $\text{cyclo}(\text{aaAaAA})$. (Es sind weitere Konformationen der Faltblattstruktur möglich.) Die Substituenten an $\text{C}\alpha$ ($\text{R} = -\text{H}$, $-\text{CH}_3$) sind entsprechend ihrer räumlichen Orientierung mit u (up) oder d (down) gekennzeichnet.



	$\frac{1}{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$	$\frac{1}{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$	$\frac{1}{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$
$\text{cyclo}(\text{GAG})_2$	141.3 Hz	143.1 Hz	141.9 Hz
$\text{cyclo}(\text{aaAaAA})$	143.3/144.1 Hz	145 Hz	141.6/141.9 Hz

Tabelle 31: ^{13}C -chemische Verschiebungen (Ref. Dioxan = 66.5 ppm) und $^1\text{J}(\text{Ca}, \text{H})$ -Kopplungskonstanten in cyclo(GAG) $_2$, cyclo(AAG) $_2$ und cyclo(AAaAA). Die Lage der Ca-Substituenten in den (theor. ausgefachten) Falblattstrukturen ist wie in Figur 36 mit den Indices u (up) und d (down) gekennzeichnet.

	$^{13}\text{C}(\text{ppm})$	$\text{Ca}(1)/\text{Ca}(4)$ $^1\text{J}(\text{Ca}, \text{H})$ Hz	$\text{Ca}(2)/\text{Ca}(5)$ ^{13}C ppm	$^1\text{J}(\text{Ca}, \text{H})$ Hz	^{13}C ppm	$^1\text{J}(\text{Ca}, \text{H})$ Hz
cyclo(GAG) $_2$	41.51	141.3	50.4	143.1	42.45	141.9
cyclo(AAG) $_2$	42.56	142.6	50.45	144.9	42.41	141.5
cyclo(AAaAA)	resc.	141.5	50.45	144.9	42.57	142.1
	43.13	143.3	50.43	145.5	42.67	141.7
	43.66	144.1	50.35	144.8	42.43	141.5
	$\text{Ca}(1)$ od. (4)		$\text{Ca}(2)$ od. (5)		$\text{Ca}(3)$ od. (6)	
	u	d	u	d	u	d
cyclo(GAG) $_2$	H	H	H	H	H	H
cyclo(AAG) $_2$	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	H
	H	H	CH ₃	H	H	CH ₃
cyclo(AAaAA)	H	CH ₃	H	CH ₃	CH ₃	H
	H	CH ₃	H	CH ₃	H	CH ₃

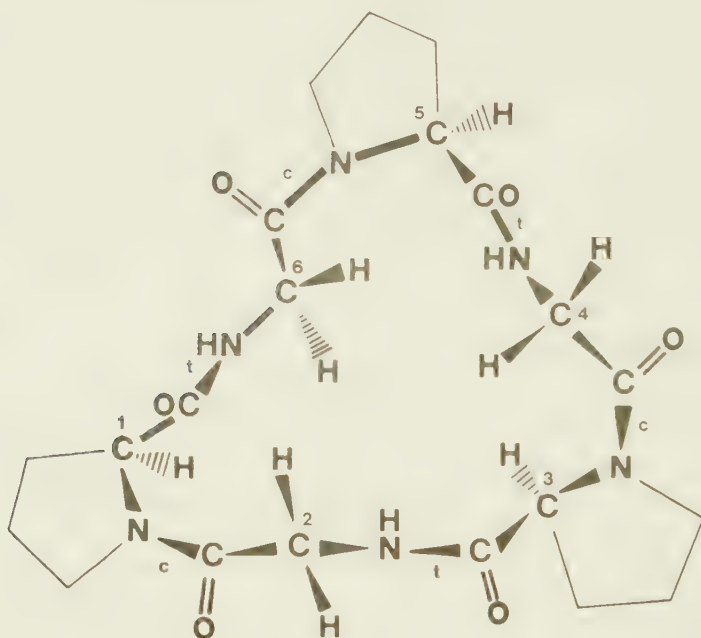
Die Newman-Projektionen (Figur 36) für C(1/4) und C(3/6) entlang der N-C α - und C α -CO-Achsen stellen eine mittlere Lage der C α ,H-Bindungen bezüglich dem p_z-Orbital und dem π -System der CO-Gruppe dar. Entsprechend der Beweglichkeit der Amidbindung im β -turn muss die Drehung um Φ und Ψ berücksichtigt werden. Aus der Darstellung ist gut ersichtlich, dass im relativ starren cyclo(aaAaAA) für C(1/4) und C(3/6) (R^U = H resp. R^D = H) verschiedene Kopplungskonstanten zu erwarten sind. Für die Alanineinheiten im β -turn von cyclo(aaAaAA) findet man unterschiedliche Kopplungskonstanten (C(1/4): 143.3 und 144.1 Hz, C(3/6): 141.6 und 141.9 Hz).

Cyclo(Gly-L-Pro)₃

Das Hexapeptid cyclo(Gly-L-Pro)₃ besitzt in unpolaren Lösungsmitteln oder als Metallkomplex C₃-Symmetrie. CD-Untersuchungen und Energiebetrachtungen belegen transoide Konfigurationen für alle Gly-Pro und Pro-Gly Peptidbindungen. In H₂O und in reinem DMSO wird ein asymmetrisches Molekül gefunden. Im NMR-Spektrum werden für die Glycin- und Prolineinheiten je drei C α -Resonanzen gefunden. Blout schloss aufgrund der chemischen Verschiebungen der γ -Kohlenstoffatome der Prolineinheiten auf eine cis-Amidbindung für Gly-Pro.^{118a} In früheren Arbeiten diskutierten Blout et. al. eine asymmetrische Struktur mit der Amidsequenz cis-trans-cis-trans-cis-trans (Gly-Pro: cis). Nur für die letztere Struktur lassen sich den Newman-Projektionen für die C α -Gruppen von Prolin und Glycin entlang der Achsen für die Torsionswinkel Φ und Ψ die experimentellen Kopplungskonstanten zuordnen.

Die Winkel Φ' und Ψ' in Figur 37 wurden am Kalottenmodell abgeschätzt. Bei drehbaren Amidbindungen wurde zur Berechnung der Kopplungskonstanten der Mittelwert der beiden Extreme für Ψ' oder Φ' eingesetzt.

Figur 37: Strukturvorschlag für $\text{cyclo}(\text{Gly-L-Pro})_3$ in D_2O und Zuordnung der ^{13}C -NMR Shifts aufgrund der Beziehung (77).



	$\delta(\text{C}\alpha)\text{ppm}$	$^1J(\text{C}\alpha, \text{H}) \text{ Hz}$		ϕ'	ψ'
		exp.	ber.		
Pro(C α 1)	61.39	151.3	150.0	0	90
Pro(C α 3)	60.41	148.1	146.1	20	0-90
Pro(C α 5)	60.7	149.1	149.3	0	40-90
Gly(C α 2)	40.85	136.9	138.9	0-90	20
		141.5	143.1	120-30	100
Gly(C α 4)	41.12	143.6	142.0	0-90	60
		140.8	142.0	120-30	60
Gly(C α 6)	41.19	139.1	136.0	60	30
		139.1	136.0	60	30

Cyclooctasarcosyl

Der 24-gliedrige Ring von Cyclooctasarcosyl behält in Lösung eine bevorzugte Konformation bei. Titlestad¹¹⁹ zeigte, dass für die acht Methylengruppen im ¹H-Spektrum vier AB-Systeme erhalten werden. Aufgrund von ¹H-NMR Temperaturexperimenten zwischen -80 und +40°C wurde gefolgert, dass die Kristallstruktur in Lösung erhalten bleibe. Protonen- und ¹³C-NMR-Spektren sind in Übereinstimmung mit der C₂-Symmetrie der Molekel im Festkörper. (Röntgenstrukturanalyse¹⁰⁹). Die ¹³C- und ¹H-NMR-Signale wurden mit einer Reihe von off-resonanz Experimenten zugeordnet (Tabelle 32).

Tabelle 32: Zuordnung der ¹³Cα- und der Methylen-¹H-Resonanzen in cyclo(Sar)₈.

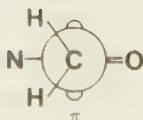
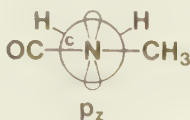
δ(¹³ C) (ppm)	¹ J(Cα,H) (Hz)	δ(¹ H) (ppm)	² J(H,H) (Hz)
51.59	140.0	5.58	4.79
		3.70	4.36
50.77	137.6	3.89	4.39
50.26	142.5	3.03	4.80

Aufgrund der ¹J(Cα,H)-Kopplungskonstanten muss vermutet werden, dass einige Segmente des Peptides beträchtliche Flexibilität aufweisen. Die gemessenen Kopplungskonstanten von 140.0 und 142.5 Hz liegen im Bereich konformationell gemittelter Systeme (Offenkettige Peptide). Die dritte gemessenen Kopplung von 137.5 Hz wurde den zwei diastereotopen CH₂-Gruppen mit ²J(H,H)-Kopplungen von -18 Hz zugeordnet. (vgl. I.2.3.2.) Es ist bemerkenswert, dass vier Methylengruppen in Cyclooctasarcosyl

dieselbe ^{13}C -chemische Verschiebung und nur eine einzige $^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$ -Kopplungskonstante und gleiche Werte für die geminale H, H -Kopplung besitzen. Diese Daten lassen sich sehr gut mit den im Festkörper gefundenen cis-cis Segmenten in Verbindung bringen. (Figur 38a)

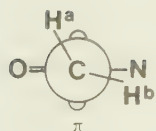
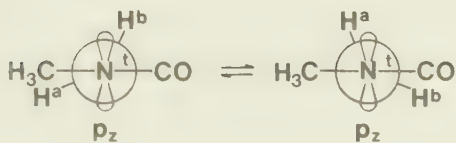
Die vier anderen Methylengruppen bilden zwei Paare mit unterschiedlichen ^{13}C -chemischen Verschiebungen, $^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$ -Kopplungskonstanten und $^2\text{J}(\text{H}, \text{H})$ -Kopplungen. Die beobachteten $^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H})$ -Kopplungskonstanten (140.0 ± 1 und $142.5 \pm 1\text{Hz}$) lassen vermuten, dass diese Segmente flexibler sind. (Figur 38b) Anhand eines Kalottenmodells auf der Basis der Festkörperstruktur können die Konformationsüberlegungen gefestigt werden. Somit kann ausgesagt werden, dass die cis-Amid-Segmente strukturell fixiert sind, während für die trans-Amid-Segmente beträchtliche Torsionen um Φ und Ψ möglich sind.

Figur 38a: Paarweise identische starre Konformationen in der Region der cis-Amid-Systeme.

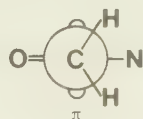


$$^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{H}) = 137.6 \text{ Hz}$$

Figur 38b: Flexible trans-Amid Region in Cycloocta-sarcosyl.



$$^1J(C\alpha, H) = 140.0 \text{ Hz}$$



$$^1J(C\alpha, H) = 142.5 \text{ Hz}$$

IV. 1.1.1. Empirische Strukturbezugsfaktoren

1.1.1.1. Bestimmung von $^1J(C,C)$ -Kopplungskonstanten als Produkt zweier empirischer strukturbezogener Faktoren.

Als Folge der stetigen Verbesserung der ^{13}C -NMR-Geräte und -Techniken und der Verwendung isotoopenmarkierter Substrate in mechanistischen und biosynthetischen Studien entwickelte sich ein steigendes Interesse für die Bestimmung, Interpretation und die strukturelle Anwendung von C,C-Kopplungskonstanten. Die ziemlich grossen Werte von $^1J(C,C)$ sind von besonderem Interesse, da diese Kopplungen heute zum Teil auch aus nichtmarkierten Verbindungen zugänglich sind. (vgl. Kapitel II.2.) Quantenmechanische Rechnungen (vgl. Kapitel I.1.4.) zeigten, dass die Spin-Spin Wechselwirkung zwischen ^{13}C -Kernen durch den Fermi-Kontakterm dominiert werden. (vgl. Gleichungen (19) - (23)) Da quantenmechanische Rechenverfahren aufwendig sind und die Resultate von der verwendeten Methode abhängen, führt dieser Weg nicht zu praktisch verwendbaren Resultaten, wenn man daran interessiert ist, für ein beliebiges C,C-Fragment in einem beliebigen grösseren Molekül eine $^1J(C,C)$ -Kopplungskonstante abzuschätzen.

Hingegen ist es auf der Basis der Theorie einleuchtend, $^1J(C,C)$ -Kopplungskonstanten als ein Produkt zweier empirischer Faktoren $I(C_1)$ und $I(C_2)$ darzustellen:

$$(81) \quad ^1J(C_1, C_2) = I(C_1) \cdot I(C_2) \text{ Hz}$$

Diese empirischen Faktoren enthalten, entsprechend der Gleichung (20), Elemente der s-Elektronendichte, der C,C-Bindungsordnung und der Anregungsenergien. Um die $I(C)$ -Werte aus experimentellen Kopplungskonstanten herzuleiten, ist es nützlich, vier Schlüsselfaktoren aus symmetrischen Molekülen (CH_3-CH_3 , $CH_2=CH_2$, Benzol, $CH\equiv CH$) zu definieren. Die

Schlüsselfaktoren charakterisieren die Fragmente $-\text{CH}_3$, $=\text{CH}_2$, $=\text{CH}-(\text{aromat.})$ und $\equiv\text{CH}$.

Tabelle 33: Schlüsselfaktoren $I(\text{C}) \text{ Hz}^{1/2}$ aus symmetrischen Molekülen

Substanz	$^1J(\text{C}, \text{C}) \text{ exp.}$	Fragment	Ref.	$I(\text{C}) (\text{Hz}^{1/2})$
$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_3$	34.6 ± 0.1	CH_3	15,120	5.88 ± 0.01
$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$	67.6 ± 0.2	CH_2	120,121	8.22 ± 0.01
Benzol	55.8 ± 0.5	$\text{CH}(\text{Ar})$	121 a,b	7.47 ± 0.03
$\text{HC}\equiv\text{CH}$	172.0 ± 1.0	CH	120,121	13.11 ± 0.04

Mit Hilfe der Schlüsselfaktoren lassen sich weitere $I(\text{C})$ -Werte aus unsymmetrischen Molekülen entwickeln, indem man die experimentelle Kopplungskonstante durch den zugehörigen Schlüsselfaktor dividiert. Auf diese Weise wurden $I(\text{C})$ -Werte für eine Reihe von Strukturfragmenten aus methylsubstituierten Verbindungen ermittelt. (Tabellen 34-37)

Aus verschiedenen früheren Arbeiten über $^1J(\text{C}, \text{C})$ -Kopplungskonstanten (z.B. in Methanderivaten) geht hervor, dass zwischen analogen $^1J(\text{C}, \text{H})$ - und $^1J(\text{C}, \text{C})$ -Kopplungskonstanten lineare Korrelationen beobachtet werden.³⁶ Der theoretische Zusammenhang zwischen den beiden Kopplungskonstanten wird in Gleichung (82) ausgedrückt. α^2 bedeutet die s-Elektronendichte resp. den s-Charakter am C-Atom.

Tabelle 34: $^1J(r, r)$, $^2J(r, r)$ und berechnete $I(C)$ -werte für die Systeme CH_3CX_2Y und $H-CXY_2$

X	Y	Z	$^1J(C, C)$ (exp.)	Hz	Ref.	$I(C) \pm 0.05 \text{ Hz}^{1/2}$	$^1J(C, H)$ (exp.)
H	H	OCH_2CH_3	38.9 ± 0.1		122	6.62	-
H	H	F	38.2 ± 0.1		122	6.50	141.1
H	H	OH	37.7 ± 0.1		122, 123	6.41	141.0
H	H	NH_2	35.8 ± 0.1		122	6.09	133.0
H	H	COOH	34.8 ± 0.1		122	5.92	130.0
H	H	H	34.6 ± 0.1		15, 120	5.88	125.0
H	H	CH_2OH	34.2 ± 0.5		123	5.82 ± 0.1	126.9
H	H	C_6H_5	34 ± 2		25	5.80 ± 0.3	129.4
H	H	CH_3	33 ± 2		122	5.60 ± 0.3	124.9
H	CH_3	OH	38.4 ± 0.8		123	6.53 ± 0.2	140.3
CH_3	CH_3	Br	40.2		124	6.84	-
CH_3	CH_3	OH	35.5 ± 0.8		123	6.77 ± 1.2	142.8
CH_3	CH_3	CH_3	35.5 ± 0.1		121	6.28	-

Tabelle 35: Systeme $\text{CH}_3\text{-X}$ und H-X

X	$^1\text{J}(\text{C}, \text{C})$ Hz (exp.)	Ref.	$\text{I}(\text{C}) \pm 0.05$ Hz ^{1/2}	$^1\text{J}(\text{C}, \text{H})$ Hz (exp.)
$\text{CH}=\text{CH}_2$	41.9 ± 1.1	125	7.13	116.2
C_6H_5	44.2 ± 0.15	126	7.57	111
$\text{C}\equiv\text{CH}$	67.4 ± 0.1	125	11.46	249

Tabelle 36: Systeme $\text{CH}_3\text{-COX}$ und H-COX

X	$^1\text{J}(\text{C}, \text{C})$ Hz (exp.)	Ref.	$\text{I}(\text{C}) \pm 0.05$ Hz ^{1/2}	$^1\text{J}(\text{C}, \text{H})$ Hz (exp.)
OC_2H_5	58.8 ± 0.1	127	10.00	225.6
OH	56.7 ± 0.1	127	9.64	222.0
Cl	56.1 ± 0.1	127	9.54	-
$\text{N}(\text{CH}_3)_2$	52.2 ± 0.1	127	8.88	191.2
C_6H_5	43.3 ± 0.1	25, 127	7.36	173.7
CH_3	40.4 ± 0.1	123	6.87	172.4
H	39.4 ± 0.2	127	6.70	172.0

$$(82) \quad \frac{{}^1J(C, \dots)}{{}^1J(C, C)} = \frac{\gamma(\dots)}{\gamma(C)} \cdot \frac{\alpha^2(C, \dots)}{\alpha^2(C, C)} \cdot \frac{\Delta E(C)}{\Delta E(H)}$$

Das Verhältnis der mittleren Anregungsenergien $\Delta E(C)/\Delta E(H)$ wird näherungsweise eins.¹²⁸

Die Kombination von (81) und (82) ergibt den Zusammenhang (83) zwischen der ${}^1J(C, H)$ -Kopplungskonstanten und dem empirischen Faktor $I(C)$.

$$(83) \quad {}^1J(C, H) = \frac{\gamma(H)}{\gamma(C)} \cdot \frac{\alpha^2(C, H)}{\alpha^2(C, C)} \cdot I(C)^2$$

Oder aufgelöst nach $I(C)$ mit Hilfe von (26)

$$(84) \quad I(C) = \left(\frac{\alpha^2(C, C)}{3.977 \cdot 500 \cdot \alpha^4(C, H)} \right)^{1/2} \cdot {}^1J(C, H)$$

$$k = \left(\frac{\alpha^2(C, C)}{3.977 \cdot 500 \cdot \alpha^4(C, H)} \right)^{1/2} \text{ Hz}^{-1/2}$$

Diese äusserst grobe Näherung führt für $\alpha^2(C, H) = 0.25$ und $\alpha^2(C, C) = 0.25$ für ideal sp^3 -hybridisierte Kohlenstoffatome zu einem Wert $k = 44.9 \cdot 10^{-3} \text{ Hz}^{-1/2}$.

Die Korrelation experimenteller ${}^1J(C, H)$ -Kopplungskonstanten mit $I(C)$ -Werten für analoge Fragmente führt für Methanderivate zu der Beziehung (85).

$$(85) \quad I(C) = 45.5 \cdot 10^{-3} \cdot {}^1J(C, H)^{1/2} \text{ Hz}^{1/2}$$

Da sich ${}^1J(C, H)$ -Kopplungskonstanten in Methanderivaten mit Malinowski-Inkrementen δ berechnen lassen, liegt es nahe, $I(C)$ -Werte und damit indirekt ${}^1J(C, C)$ -Kopplungskonstanten auf dieselbe Weise abzuschätzen. $I(C)$ muss sich für Methan-

derivate analog zur Malinowski-Methode als Summe von drei Substituenteninkrementen darstellen lassen.

$$(86) \quad I(C) = X(X) + X(Y) + X(Z)$$

Für die Substituenteninkremente X kann in Analogie zu (85) eine Gleichung (87) formuliert werden.

$$(87) \quad X = 45.5 \cdot 10^{-3} \zeta \quad \text{Hz}^{1/2}$$

Mit (87) und (86) können $I(C)$ -Werte aus Malinowski-Inkrementen ζ berechnet werden.

Die Berechnung von $^1J(C,C)$ -Kopplungskonstanten aus $I(C)$ -Werten führt insbesondere für C,C-Kopplungen über eine Einfachbindung (sp^3-sp^3 , sp^3-sp^2) zu sehr guten Resultaten für beliebige Kombinationen in einer grossen Vielfalt von Strukturen. Die Abweichungen zwischen berechneten und experimentellen Werten ist in den meisten Fällen kleiner als ± 1 Hz. In sp^2-sp^2 -Fragmenten nehmen die Abweichungen mit dem Ausmass der Konjugation zu. Dies ist verständlich, da das Verfahren allein auf dem Fermi-Kontaktterm begründet ist und Orbital- resp. Dipolwechselwirkungen zur Kopplung nicht berücksichtigt. Die Abweichungen für solche Fälle erreichen zum Teil ± 3 Hz.

Starke Abweichungen zwischen berechneten und experimentellen Kopplungskonstanten findet man, wenn eines oder beide C-Atome sp -hybridisiert sind. Dies ist nicht erstaunlich, beträgt doch der Fermikontakt-Anteil an $^1J(C,C)$ in Dreifachbindungen nur rund 80%.

Die beschriebene Methode könnte jedoch, gerade wegen des dargelegten Mangels, dazu angewendet werden, aus experimentellen Kopplungen in π -Systemen die Orbital- und Dipol-Beiträge für $J(C,C)$ -Kopplungen abzuschätzen. Damit liessen sich die Bindungsverhältnisse z.B. in Olefin-Metallkomplexen besser beurteilen.

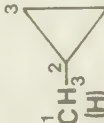
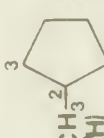
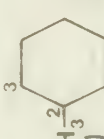
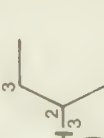
1.1. $^1J(C,C)$ -Kopplungskonstanten in Cycloalkanen

Das Konzept der Hybridisierung erlaubt eine Korrelation von $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstanten mit den Valenzwinkeln, die ihrerseits mit dem Hybridisierungsgrad der bindenden Hybridorbitale zusammenhängen.

Tabelle 37 illustriert, dass bei $I(C)$ -Werten analog zu den $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstanten in Cycloalkanen eine Beziehung zum Hybridisierungsgrad der bindenden Hybridorbitale auftritt. Ein Hybridorbital, welches die Bindung zu einem Substituenten (z.B. $-CH_3$) am Ring ausbildet, besitzt einen grösseren s-Charakter, je enger der Valenzwinkel im Ring wird. Dementsprechend nehmen die s-Charaktere der Hybridorbitale für die Bindung im Ring ab. Die $I(C)$'s widerspiegeln das Hybridisierungskonzept in die beiden Bindungsrichtungen sehr gut.

Für die Anwendung von $I(C)$ -Werten zur Berechnung von $^1J(C,C)$ -Kopplungskonstanten muss berücksichtigt werden, dass die an ungespannten Molekülen ermittelten Faktoren $I(C)$ die C,C -Kopplungskonstanten in gespannten Ringen nicht mehr richtig reproduzieren. Die Tabelle 37 zeigt jedoch, dass Kopplungen zu ^{13}C -Substituenten am Ring die Beziehung (85) sehr gut erfüllen und folglich für substituierte Ringe aus den analogen $^1J(C,H)$ -Kopplungskonstanten abgeschätzt werden können.

Tabelle 37: Exp. $^1J(\text{C}, \text{C})$, $^1J(\text{C}, \text{H})$ und berechnete $^1J(\text{C}, \text{H})$ -werte für Methyl-cyclo-alkane

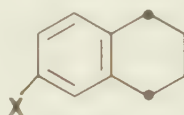
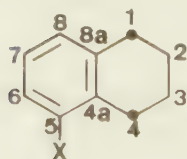
						
$^1J(2,1)$	± 0.1 Hz	44.0 $^{+23}$	36.1 $^{+21a}$	36.2 $^{+21a}$	35.7 $^{+11a}$	35.4 $^{+121b}$
$^1J(2,3)$	± 0.1 Hz	13.4 $^{+21a}$	28.9 $^{+21a}$	-	33.3 $^{+21a}$	34.9 $^{+21a}$
$^1J(2,H)$	Hz	160 $\pm$ 2	136 $\pm$ 1	131 $\pm$ 2	127 $\pm$ 2	-
$I(2 \rightarrow 1)$	Hz $^{1/2}$	7.5 $\pm$ 0.1	6.15 $\pm$ 0.1	6.15 $\pm$ 0.1	6.1 $\pm$ 0.1	6.0 $\pm$ 0.1
$I(3 \rightarrow 2)$	Hz $^{1/2}$	3.7 $\pm$ 0.1	5.4 $\pm$ 0.1	-	5.8 $\pm$ 0.1	5.9 $\pm$ 0.1

2. Anwendungen

An einer Reihe ^{13}C -isotopensubstituierter Substanzen¹²⁹ wurden $^1\text{J}(\text{C},\text{C})$ -Kopplungskonstanten gemessen. Die ermittelten Kopplungskonstanten werden mit berechneten verglichen. Dabei wurden nach Möglichkeit $I(\text{C})$ -Werte aus den Tabellen 33-38 verwendet. Wo keine $I(\text{C})$ -Werte zur Verfügung standen, wurden diese mit Hilfe der Gleichung (85) aus $^1\text{J}(\text{C},\text{H})$ -Kopplungskonstanten resp. mit (86) und (87) aus Malinowski-Inkrementen ermittelt.

1,4- ^{13}C Tetraline: In Figur 39 sind die gemessenen Tetralinderivate abgebildet. Anstelle der $I(\text{C})$ -Werte für das Fragment $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ wurde aus der Tabelle 39 der $I(\text{C})$ -Wert für $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ benutzt. Die experimentellen und berechneten $^1\text{J}(\text{C},\text{C})$ -Kopplungskonstanten sind in Tabelle 38 dargestellt.

Figur 39: Substituierte ^{13}C -isotopensubstituierte Tetraline



A: $\text{X} = -\text{H}$

B: $= -\text{NH}_2$

C: $= -\text{N}(\text{CH}_3)_2$

D: $= -\text{NO}_2$

E: $\text{X} = -\text{NH}_2$

F: $= -\text{N}(\text{CH}_3)_2$

G: $= -\text{NO}_2$

Tabelle 38: $^1\text{J}(\text{C},\text{C})$ -Kopplungskonstanten in den $[1,4-^{13}\text{C}]$ Tetralinien A - G.

	A		B	C	D	E	F	G
	exp.	ber	exp	exp	exp	exp	exp	exp
8a,1	41.7	42.4	41.3	41.3	41.9	42.9	43.3	41.0
4a,4	41.7		42.0	42.2	41.3	41.0	41.3	41.8
2,1	33.6	32.5		33.6	32.6	30-35	33.0	33.6
3.4	33.6			33.6	33.6		33.5	33.6

$1-^{13}\text{CO}$ Phenylelessigsäure: Die experimentelle Kopplungskonstante beträgt 55.4 Hz. Mit Hilfe der $\text{I}(\text{C})$ -Werte wurden 55.9 Hz berechnet.

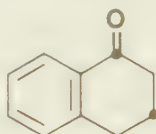
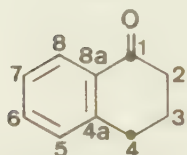
$1-^{13}\text{CO}$ Phenylelessigsäureamid: Das Fragment- CONH_2 fehlt in der Tabelle 36. Das strukturell verwandte Fragment $-\text{CON}(\text{CH}_3)_2$ ergibt eine $^1\text{J}(\text{CO},\text{C})$ -Kopplungskonstante von 51.5 Hz. Dieser Wert liegt deutlich über dem experimentellen. Gemessen wurden 48.2 Hz. Wendet man die Gleichung (85) und die $^1\text{J}(\text{C},\text{H})$ -Kopplung von Formamid (188.3 Hz) zur Berechnung von $\text{I}(\text{C})$ an, so erhält man eine $^1\text{J}(\text{C},\text{C})$ -Kopplungskonstante von 49.7 Hz. Dieser Wert ist zwar noch immer höher als der gemessene, indessen zeigt das Beispiel eine allgemeingültige Eigenschaft der Methode: Müssen $\text{I}(\text{C})$ -Werte angenähert werden, so werden die besten Resultate via analoge $^1\text{J}(\text{C},\text{H})$ -Kopplungskonstanten erhalten.

$[1,3-^{13}\text{C}]$ - und $[1,4-^{13}\text{C}]$ Tetralon: In Tetralon treten zwei Fragmente auf, für welche weder $^1\text{J}(\text{C},\text{H})$ -Kopplungskonstanten noch Malinowski-Inkrementen zur Verfügung stehen.

In diesem Fall wird versucht, die C,C -Kopplung mit Hilfe strukturell verwandter Fragmente zu reproduzieren. Anstelle von $-\text{CO}-\text{CH}_2-$ und $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ wurden die naheliegenden Frag-

mente $-\text{CO}-\text{CH}_3$ und $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ für die Wahl des $I(\text{C})$ -Wertes ausgesucht. Der Vergleich der experimentellen und berechneten Kopplungskonstanten zeigt, dass eine CH_2 -Gruppe in der 2. Sphäre gut durch eine CH_3 -Gruppe ersetzt werden darf. (Tabelle 39)

Tabelle 39: $^1\text{J}(\text{C}, \text{C})$ -Kopplungskonstanten in Tetralon.



	1,8a	1,2	2,3	3,4	4,8a
exp	51.1	40.5	31.9	32.8	40.8
ber	52.0	41.1	32.4	33.3	41.4

[2- ^{13}C] Phenylaethane: Anhand der Moleküle [1- ^{13}C] 2-Phenyl-
aethanol (1), [1- ^{13}C] 2-Phenylaethylamin (2) und [1- ^{13}C] 2-
Phenylaethylbromid (3) lassen sich Vergleiche zwischen direkt
aus der Tabelle ermittelten $I(\text{C})$ -Werten und solchen aus
Malinowski-Inkrementen anstellen. Die experimentellen $^1\text{J}(\text{C}, \text{C})$ -
Kopplungskonstanten betragen für die Substanz 1: 35.6 Hz,
für 2: 34.3 Hz und für 3: 35.1 Hz. Aus den tabellierten $I(\text{C})$ -
Werten erhält man für 1: 37.2 Hz und für 2: 35.3 Hz. Für 3
stehen keine $I(\text{C})$ -Werte zur Verfügung. Die aus Malinowski-
Inkrementen ermittelten $I(\text{C})$ -Werte führen in obiger Reihen-
folge zu folgenden Kopplungskonstanten: 37.8 Hz, 35.1 Hz und
... ..

$^1\text{J}(\text{C},\text{C})$ -Kopplungskonstanten in Aminosäuren

In Kapitel I.2.2.3. wurde darauf hingewiesen, dass $^1\text{J}(\text{C},\text{C})$ -Kopplungskonstanten in Aminosäuren schwache pH (pD)-Effekte zeigen. Mit Hilfe der neu ermittelten Malinowski-Inkrementen, welche speziell für $^1\text{J}(\text{C},\text{H})$ -Kopplungen in Aminosäuren und Peptiden ermittelt wurden, lässt sich $^1\text{J}(\text{C},\text{C})$ in Abhängigkeit vom Protonierungsgrad der Aminosäure abschätzen. An 90% ^{13}C -isotopenmarkiertem Lysin wurde bei pD = 0, 3.6 und 13.9 je ein ^{13}C -NMR Experiment durchgeführt. In Tabelle 40 sind die gemessenen und die berechneten Kopplungskonstanten dargestellt.

Tabelle 40: Abhängigkeit der C,C-Kopplungskonstanten vom Protonierungszustand in L-Lysin (Lösungsmittel D₂O)

pD		$\text{J}(\text{C}\alpha, \text{C}\beta)$	$\text{J}(\text{C}\alpha, \text{C}\gamma)$	$\text{J}(\text{C}\beta, \text{C}\gamma)$	$\text{J}(\text{C}\gamma, \text{C}\delta)$	$\text{J}(\text{C}\delta, \text{C}\epsilon)$
0	exp	59.3	33.4	33.7	34.3	35.4
	ber	61.8	38.9	34.6	34.6	37.5
3.6	exp	53.5	34.1	34.2	34.3	35.0
	ber	56.3	38.5	34.6	34.6	37.5
13.9	exp	53.0	34.7	34.6	34.1	35.1
	ber	53.0	36.6	34.6	34.6	35.8

Auffallend ist das Verhalten der $^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{C}\beta)$ - und $^1\text{J}(\text{C}\beta, \text{C}\gamma)$ -Kopplungskonstanten. Mit zunehmendem pD-Wert nehmen diese Kopplungen nicht wie erwartet ab, sondern zu. Dasselbe Phänomen kann zum Beispiel auch an $^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{C}\beta)$ in Alanin beobachtet werden. Da sowohl die C,C-Kopplung zwischen C α , C β in Lysin und Alanin als auch die C α ,H-Kopplung (gemessen in Alanin) "normales" Verhalten bezüglich der Deprotonierung der Aminosäure zeigen, kann angenommen werden, dass die Anomalie der $^1\text{J}(\text{C}\alpha, \text{C}\beta)$ -Kopplungskonstante nicht mit einer

allfälligen Valenzwinkeldeformation zusammenhängt. Da der Effekt in Lysin jedoch auch für die $^1J(C\beta, C\gamma)$ -Kopplungskonstante beobachtet wird, liegt es nahe, die Ursache des dargelegten Verhaltens auf die $C\beta$ -Gruppe zu lokalisieren. Offenbar wird die Elektronendichte an $C\beta$ über die $C\beta$ -H-Bindungen durch die benachbarten ionischen Gruppen beeinflusst. Aus dem Vergleich zwischen experimentellen und berechneten C,C-Kopplungskonstanten lässt sich abschätzen, dass die Ammonium- und die Carboxylatgruppe via das protonen tragende $C\beta$ die $^1J(C\alpha, C\beta)$ -Kopplungskonstante je um ca. 2 Hz erniedrigen. Der "through space" Effekt überspielt in diesem Fall die induktiven Protonierungseffekte über die Bindung, sodass letztere nicht mehr beobachtet werden können.

V. Experimenteller Teil

1. Gemessene Substanzen

Aminosäuren und offenkettige Peptide: Die Aminosäuren Glycin, DL-Alanin und Sarcosin sowie die Di- und Tripeptide Gly₂, Ala₂, Gly₃ und Ala₃ stammen von der Firma Fluka AG (Buchs, Schweiz). Das Dipeptid Sar₂ wurde aus Sarcosin über Carbo-benzoxysarcosin und Sarcosinaethylesterhydrochlorid mit der Dicyclohexylcarbodiimid-Methode hergestellt. Die reduktive Entfernung der Schutzgruppe an Cbz-Sar-Sar-OEt wurde durch katalytische Transferhydrogenierung schonend und quantitativ erreicht.¹³⁰ Dabei wurde Pd auf Kohle und Ameisensäure als H₂-Donor eingesetzt.

Diketopiperazine: Cyclodisarcosyl wurde aus Sarcosinaethyl-esterhydrochlorid via den aktivierten 2,3,5-Trichlorphenylester unter Zusatz von Silbercarbonat in Methylenchlorid hergestellt.

Cyclo(Gly-L-Leu), cyclo(Gly-L-Ser), cyclo(Gly-L-Thr), cyclo(Gly-L-Phe) und cyclo (Gly-L-Tyr) wurden von Dr. R. Deslauriers, Division of Biological Sciences, Ottawa (Canada) zur Verfügung gestellt. Eine Probe von cyclo(Gly-L-Pro) aus dem Labor von Prof. E.R. Blout, Harvard Medical School, Boston (USA) verschaffte uns Dr. K. Bachmann (Ciba-Geigy, Basel).

Cyclische Oligopeptide: cyclo(Gly-L-Pro)₂ und cyclo(Gly-L-Pro)₃ stammen aus derselben Quelle wie das Diketopiperazin cyclo(Gly-L-Pro).

Cyclo (Gly-Ala-Gly)₂, cyclo(Gly-Ala-ala)₂, cyclo(Gly-ala-Ala)₂ und cyclo(Ala ala Ala ala ala Ala) stammen aus den Laboratorien der Professoren V. Prelog resp. H. Gerlach, ETH Zürich, und wurden uns von Prof. Wagnière, Universität Zürich, vermittelt.

Cyclotetrasarcosyl und Cyclooctasarcosyl wurden uns von

Prof. J. Dale und Dr. K. Titlestad, Universität Oslo, zur Verfügung gestellt.

^{13}C -markiertes Lysin: 90% gleichmässig an allen C-Atomen
 ^{13}C -markiertes Lysin wurde uns für die Messungen von F. Ruther (Gruppe Prof. Viscontini), Universität Zürich, überlassen.

^{13}C -markierte Verbindungen: 11 ^{13}C -markierte Verbindungen (Kapitel IV) wurden im Rahmen des NMR-Service für die Gruppe Prof. M. Hesse, Universität Zürich, gemessen.¹²⁹

2. Instrumentelles

Die Aufnahme der ^{13}C -Spektren erfolgte mit Varian-Geräten des Typs XL-100-12 und XL-200. Das XL-100-12 Spektrometer ist mit einem 620L-16K Computer und einem SI 3500 / Diablo 3l Disk System ausgerüstet.

Die Titrationsexperimente wurden in Probenröhrchen mit 18 mm Durchmesser durchgeführt. Dazu wurde am XL-100-12 ein V-4418 Probenkopf mit 18 mm - Insert verwendet. Die cyclischen Peptide wurden im Normalfall in 10 mm Röhrchen auf dem XL-100 resp. XL-200 gemessen. D_2O -Lösungen von cyclo(Gly-L-Pro), cyclo(Gly-L-Pro)₂ und cyclo(Gly-L-Pro)₃ wurden in eine Kugelzelle von ca. 8 mm Durchmesser eingefüllt. Die Kugelzelle wurde in ein 10 mm Röhrchen eingeführt und auf die Höhe der Observe-Spule justiert. Die Messung in der Kugelzelle ergibt einen S/N-Gewinn von ca. 2-3 verglichen mit einer Lösung derselben Menge Substanz in einem 10 mm Röhrchen. Die Anwendung der Kugelzelle ist für Messungen von geringen Substanzmengen bei guter Löslichkeit sinnvoll.

Die ^{13}C -NMR Messungen wurden an Lösungen mit den folgenden Konzentrationen durchgeführt: Aminosäuren: 1-2 m, Peptide: 0.01-0.2 m, ^{13}C -markierte Verbindungen: ca. 1 m. Als Lösungsmittel für die Aminosäuren und Peptide wurde nach Möglichkeit D_2O , sonst aber d_6 -DMSO verwendet. (Ausnahmen Kap. III.8.) In D_2O wurde als Referenzsubstanz Dioxan (= 66,5 ppm) verwendet.¹⁰¹ Die ^{13}C -chemische Verschiebung von Dioxan ist unabhängig vom pD.¹³¹

Sie wurde deshalb als Referenzsignal für die Titrations-
experimente verwendet. Die Messtemperatur für die Titra-
tionsexperimente betrug $35 - 40^{\circ}\text{C}$. Die cyclischen Peptide
wurden bei 40°C gemessen. Für $\text{cyclo}(\text{Gly-L-Pro})_2$ wurde
eine Messtemperatur von 80° gewählt. Ein Teil der $\text{FT-}^1\text{H}$ -
Spektren wurde auf dem XL-100-15 (cycloenantiomere Hexa-
peptide), die Mehrzahl jedoch auf dem XL-200 gemessen.

Die Messung der Kopplungskonstanten geschah am XL-100 mit
einer Genauigkeit von ca. ± 0.5 Hz entsprechend einer
Aquisitionszeit (AT) von 2,7 - 3 sec. Am XL-200 wurden
 ^1H -gekoppelte ^{13}C -Spektren mit einer AT von ca. 1,7 sec.
aufgenommen. Der Messfehler liegt dann bei ± 0.9 Hz.
Die Reproduzierbarkeit der gemessenen Kopplungskonstanten
für wiederholte Experimente (Diketopiperazine auf XL-100-12
und XL-200) ist stets besser als ± 0.5 Hz. Die Reproduzier-
barkeit der Kopplungsdaten aus Multipletten für ein und
dieselbe Messung ist besser als ± 0.2 Hz. Die Messgenauig-
keit der chemischen Verschiebungen beträgt $\pm 0.01 - 0.02$ ppm
(je nach AT).

pD-Messung

Für die pD-Messung wurde eine pH-Messkette vom Typ CA1-S/spez.
TL 215 mm verwendet. In der Spezialanfertigung der Firma
Möller, Zürich, besitzt das Glasrohr der Glaselektrode eine
Länge von 215 mm und einen Durchmesser von 5 mm.

A N H A N G

BASIC-Programme (620L Computer, XL-100)

Es steht ein BASIC-Interpreter für den 620L Computer zur Verfügung. Die beschriebenen Programme wurden auf eine spezielle Disk unter den aufgeführten Namen abgespeichert. (Für jedes Programm existiert ebenfalls eine Kopie auf Lochstreifen.)

Die BASIC-Programme können, nachdem der Teletype mit dem Ausdruck "READY" die Bereitschaft des Programms angekündigt hat, mit dem Befehl "RUN" über den Teletype gestartet werden. Die Durchführung der BASIC-Programme geschieht im Dialogverkehr.

ERNST-Formeln (Programmname: !ERNST)

In "off-resonance" Entkopplungsexperimenten kann das Problem der Berechnung eines der Parameter ν_{H_2} , $J(0)$, $J(\text{red.})$ oder $\Delta\nu$ aus drei bekannten Größen auftreten (z.B. ν_{H_2} aus $J(0)$, $J(\text{red.})$, $\Delta\nu$). Die Umrechnungen werden durch die folgenden Gleichungen ausgedrückt.

Formeln (Dissertation U.C.Voegeli (1978), S. 25ff)

$$\nu_{H_2} = \left(\frac{(4\Delta\nu^2 - J_r^2) (J_o^2 - J_r^2)}{4 J_r^2} \right)^{1/2}$$

$$J(\text{Red.}) = \left((\Delta\nu + 1/2 J_o)^2 + (\nu_{H_2})^2 \right)^{1/2} - \left((\Delta\nu - 1/2 J_o)^2 + (\nu_{H_2})^2 \right)^{1/2}$$

$$J(0) = \left(\frac{J_r^2 (4\Delta\nu^2 + 4 (\nu_{H_2})^2 - J_r^2)}{4\Delta\nu^2 - J_r^2} \right)^{1/2}$$

$$\Delta\nu = \left(\frac{J_r^2 [4 (\nu_{H_2})^2 + J_o^2 - J_r^2]}{4 (J_o^2 - J_r^2)} \right)^{1/2}$$

BASIC-Programm zu ERNST-Formeln

```

G2,4
READY
PLIST
100 PRINT "FOLGENDE REIHENFOLGE EINHALTEN:"
120 PRINT
130 PRINT
140 PRINT "  1.  FELD                (HZ)"
150 PRINT
160 PRINT "  2.  J(RED)              (HZ)"
170 PRINT
180 PRINT "  3.  J(0)                   (HZ)"
190 PRINT
200 PRINT "  4.  FREQUENZOFFSET (HZ)"
210 PRINT
220 PRINT "EINGABE DER PARAMETER; ZU BERECHNENDE GRÖSSE BELIEBIG EINGE"
230 INPUT H,R,J,F
240 LET A1= 4*(F↑ 2)
250 LET A2=R↑ 2
260 LET A3=J↑ 2
270 LET A4=H↑ 2
280 LET A5= 4*(R↑ 2)
290 LET B1=A1-A2
300 LET B2=A3-A2
310 LET B3=(F+( 1/ 2*J))↑ 2
320 LET B4=(F-( 1/ 2*J))↑ 2
330 LET B5= 4*A4
340 LET B6= 4*(A3-A2)
350 PRINT
360 PRINT
370 PRINT "BERECHNUNG VON?"
380 PRINT "FELD = 1; J(RED) = 2; J(0) = 3; FREQ.OFFSET = 4"
390 INPUT Ø
400 IF Ø= 1 THEN 600
410 IF Ø= 2 THEN 700
420 IF Ø= 3 THEN 800
430 LET F=SQR((A2*(B5+A3-A2))/B6)
440 GOTO 900
600 LET H=SQR((B1*B2)/A5)
610 GOTO 900
700 LET R=(SQR(B3+A4))-(SQR(B4+A4))
710 GOTO 900
800 LET J=SQR((A2*(A1+B5-A2))/B1)
810 GOTO 900
900 PRINT
910 PRINT
920 PRINT "FELD                ="H"(HZ)"
922 PRINT "J(RED)              ="R"(HZ)"
925 PRINT "J(0)                   ="J"(HZ)"
930 PRINT "FREQUENZOFFSET ="F"(HZ)"
940 PRINT
950 PRINT "NEUE RECHNUNG?"
960 PRINT "JA = 1;      NEIN = 0"
965 INPUT U
970 IF U= 1 THEN 220
980 CALL      CD
990 END
CALLCD

```

>>

Ermittlung des pK_s -Werts (Programmname: !OPTPK)

Dem Programm liegt die Henderson-Hasselbalch-Gleichung (57) zugrunde. Es wird derjenige pK_s -Wert ermittelt, welcher die kleinste Summe der quadratischen Abweichungen zwischen der theoretischen Titrationskurve und den experimentellen Messpunkten ($pH/Fkt\ pH$) aufweist.

Die Optimierung der pK_s -Werte mehrprotoniger Säuren erfolgt schrittweise für jede Protonierungsstufe. (Das Programm ist für eine zweiprotonige Säure abgefasst.) Das Programm verlangt die Eingabe der experimentellen Wertepaare $pH/Fkt\ pH$ ($Fkt\ pH = 0$ oder 1). Danach müssen die NMR-Messwerte für die protonierte und deprotonierte Spezies eingegeben werden. Als letztes verlangt das Programm einen abgeschätzten pK_s -Wert. (Sollte auf $\pm 1.5\ pK_s$ -Einheiten genau sein.) Für jede Protonierungsstufe erfolgt der Ausdruck des optimierten pK_s -Wertes.

BASIC-Programm

```
PLIST
20 FOR Z= 1 TO 2
30 DIM S(150),K(150),C(150),E(250)
40 PRINT "ANZAHL MESSWERTE = FKT(PH)";
50 INPUT N
60 PRINT "EINGABE PH, FKT(PH):"
70 FOR I= 1 TO N
80 PRINT TAB( 3);I,
90 INPUT "(I)X(I)
100 NEXT I
110 PRINT "EINGABEN 1.0.? JA = 1";
120 INPUT 0
130 IF 0= 1 THEN 200
140 PRINT "NUMMER DER NEUEN WERTE";
150 INPUT H
160 PRINT "EINGABE DER GEÄNDERTEN WERTE:"
170 PRINT TAB( 3);H,
180 INPUT T(H),Y(H)
190 GOTO 110
200 PRINT "MINIMALWEPT FUER FKT(PH) =";
210 INPUT L(F)
220 PRINT "MAXIMALWEPT FUER FKT(PH) =";
230 INPUT G2
240 LET M(Z)=G2-L(Z)
```

```
250 PRINT "GESCHAETZTE PK-WERT";
260 INPUT F
270 LET A1=(F- 1.5)
290 LET K=A1
300 FOR E= 1 TO 150
301 LET W= 0
305 LET K=K+ 2.00000E-02
310 FOR J= 1 TO N STEP 1
320 LET U1=(K-T(J))
330 LET U2= 10*U1
340 LET G(J)=L(Z)+M(Z)/( 1+U2)
350 LET D(J)=(G(J)-Y(J))2
360 LET W=W+D(J)
370 NEXT J
375 LET S(E)=W
380 NEXT E
390 LET B=S( 1)
400 FOR C= 1 TO 150
410 IF B<S(C) THEN 430
420 LET B=S(C)
430 NEXT C
440 LET M=S( 1)
450 LET M=M+ 1
460 IF B#S(M) THEN 450
470 LET X(Z)=A1+(M* 2.00000E-02)
475 PRINT
480 PRINT "OPTIMIERTER PARAMETERSATZ:"
490 PRINT
500 PRINT "MINIMALER WERT FUER FKT(PH)  ="L(Z)
520 PRINT "FKT(MAX) - FKT(MIN)          ="M(Z)
530 PRINT "OPTIMIERTER PK WERT          ="X(Z)
535 PRINT
540 NEXT Z
550 FOR Q= 0 TO 14 STEP .5
560 LET R1=(M( 1)/( 1+( 10*(X( 1)-Q))))
570 LET R2=(M( 2)/( 1+( 10*(X( 2)-Q))))
580 LET R=R1+R2
590 LET P=L( 1)+R
600 PRINT "PH ="Q"FKT(PH) ="P
610 NEXT Q
620 END
```

Berechnung der optimierten Titrationskurve

Das Programm hat die Henderson-Hasselbalch-Gleichung (57) für eine zweiprotonige Säure zur Grundlage. Nach dem Programmstart (RUN) wird die Eingabe des Anfangswertes für den NMR-Parameter, der Differenzen der NMR-Messgrößen für die drei Protonierungszustände und des pK_S -wertes verlangt.

Der Ausdruck umfasst eine Wertetabelle der $F_{kt}(pH)$ in Schritten von 0.5 pH Einheiten.

BASIC-Programm

LIST

```
10 REM BERECHNUNG VON NMR-TITRATIONSKURVEN AUS OPTIMISIERTEN Werten
20 REM HENDERSON-HASSELBALCH FORMEL PROGRAMMIERT VON H. EGGLI
30 PRINT "START FKT(PH)";
40 INPUT A
50 PRINT "1.DIFFERENZ";
60 DEF F1=1
70 PRINT "2.DIFFERENZ";
80 INPUT B2
90 PRINT "1.PK";
100 INPUT C1
110 PRINT "2.PK";
120 INPUT C2
130 DEF F1=1
140 FOR F= 0 TO 14 STEP 1
150 DEF F1=(C1/((1+(10*(C1-F))))
160 DEF F2=(B2/((1+(10*(C2-F))))
170 DEF F=F1+F2
180 DEF G=A+F
190 PRINT "PH="F" FKT(PH)="G
200 NEXT F
210 END
```

Programme für den programmierbaren Taschenrechner TI-59

Auf dem TI-59 lassen sich schon recht komplexe Programme schreiben. Ein zeitsparendes Verfassen von Programmen kann durch einen hierarchischen Aufbau der Programmstruktur erreicht werden. Auf direkte Adressierung sollte beim Zusammenstellen eines grösseren Programms verzichtet werden. Stattdessen sollten Labels verwendet werden. Die hierarchische Gliederung eines Programms kann z.B. folgendermassen durchgeführt werden:

Im Hauptprogramm werden Text und Steuerbefehle untergebracht. Das Hauptprogramm fordert Daten an und gibt Anordnungen an die nächst tiefere Programmebene weiter. Die 1. Unterprogrammebene koordiniert den geplanten Rechengang. Von hier werden die einzelnen Rechenaufgaben an die 2. Unterprogrammebene delegiert. Die 2. Unterprogrammebene enthält die Druckbefehle zur Resultatausgabe. Anschliessend werden einige Programme vorgestellt, welche im Rahmen dieser Dissertation oft Verwendung fanden.

TITLE ABX-Analyse
 TITRE
 PROGRAMMER
 PROGRAMMIERER
 PROGRAMMEUR
 Partitioning (Op 17) 1479 59 Library Module
 Speicher Bereichsverteilung Software-Modul
 Partition (Op 17) Module einfichable

PROGRAM RECORD
 PROGRAMM-BERICHT
 FICHE PROGRAMME

Printer 1a Cards 2
 Drucker Karten
 Imprimante Cartes

PROGRAM DESCRIPTION • PROGRAMM BESCHREIBUNG • DESCRIPTION DU PROGRAMME

Aus den AB-Subspektren können die Frequenzen von A, B und die Kopplungs-
 konstanten $J(A,B)$, $J(A,X)$ und $J(B,X)$ berechnet werden.
 Die Analyse des ABX-Systems liefert zwei Lösungen. Die richtige
 Lösung muss der Benutzer finden. Im Zweifelsfalle lässt sich der
 X-Teil mit dem Programm "X-Teil von ABX-Systemen" mit dem richtigen
 Parametersatz reproduzieren.

USER INSTRUCTIONS • BENÜTZER INSTRUKTIONEN • MODE D'EMPLOI

LINE NUMMER LIGNE N°	PROCEDURE PROZEDUR PROCEDURE	ENTER EINGABE INTRODUIRE	PRESS BEFEHL APPUYER SUR	DISPLAY ANZEIGE AFFICHAGE
1	Initialisierung		A	0
2	Eingabe der Frequenzen:			
	- 1. AB-Subsystem	(F1 - F2)	E/F	
	- 2. AB-Subsystem	(F3 - F4)	E/F	
3	Start der Berechnung			
	- Ausdruck der virtuellen chem. Verschiebungen		13.65120329 31.34379671	A1 B1
	- Ausdruck der $J(A,B)$ -Kopplung		20.11195046 31.48804904	A2 B2
	- Ausdruck der zwei Lösungen für die chem. Verschiebungen von A,B und der Kopplungskonst. $J(A,X)$, $J(B,X)$		-13.2 0.	AB
			16.88157712 32.91842288 -6.460747571 -1.139252339	A B AX BX

USER DEFINED KEYS PROGRAMM-ADRESSTASTEN TOUCHES UTILISATEUR		DATA REGISTERS DATENSPEICHER REGISTRES-MEMOIRE (IMV ■)	
001	12 B	0	0
012	95 -	1	1
060	10 C	2	2
064	75 -	3	3
078	11 A	4	4
		5	5
B		6	6
C		7	7
D		8	8
E		9	9
FLAGS FLACS DRAPEAUX	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9		

TLE
TEL
TREPROGRAMMER
PROGRAMMIERER
PROGRAMMEURPAGE
SEITE
PAGEOF
VON
DEDATE
DATUM
DATECODING FORM
KODEFORM
FEUILLE DE PROGRAMMATION

LOC ADR	CODE KODE	KEY TASTE TOUCHE	COMMENTS BEMERKUNGEN COMMENTAIRES	LOC ADR	CODE KODE	KEY TASTE TOUCHE	COMMENTS BEMERKUNGEN COMMENTAIRES	LOC ADR	CODE KODE	KEY TASTE TOUCHE	COMMENTS BEMERKUNGEN COMMENTAIRES
000		73	LBL	055		95	=	105		31	-
001		13	8	056		96	ADM	111		43	PCL
002		93	HD	057		96	ADM	112		38	38
003		02	3	058		98	ADM	113		75	-
004		00	6	059		76	LBL	114		43	PCL
005		42	STD	060		13	0	115		30	30
006		00	00	061		96	ADM	116		95	=
007		04	4	062		98	ADM	117		42	STD
008		42	STD	063		76	LBL	118		32	32
009		01	01	064		75	-	119		32	MIT
010		02	2	065		53	-	120		43	PCL
011		03	3	066		53	-	121		50	50
012		42	STD	067		43	PCL	122		69	DP
013		03	03	068		31	31	123		04	04
014		03	3	069		75	-	124		32	MIT
015		42	STD	070		43	PCL	125		69	DP
016		03	03	071		32	32	126		06	06
017		35	CLP	072		54	-	127		32	MIT
018		76	LBL	073		65	-	128		01	1
019		95	=	074		53	-	129		44	SUM
020		81	R 3	075		43	PCL	130		50	50
021		32	MIT	076		20	20	131		32	MIT
022		43	PCL	077		75	-	132		43	PCL
023		49	49	078		43	PCL	133		28	28
024		69	DP	079		23	23	134		85	+
025		04	04	080		54	-	135		43	PCL
026		32	MIT	081		54	-	136		30	30
027		69	DP	082		34	CM	137		95	=
028		06	06	083		55	-	138		42	STD
029		32	MIT	084		02	2	139		33	33
030		01	1	085		95	=	140		32	MIT
031		44	SUM	086		42	STD	141		43	PCL
032		49	49	087		30	30	142		51	51
033		32	MIT	088		53	-	143		69	DP
034		72	ST+	089		53	-	144		04	04
035		00	00	090		43	PCL	145		32	MIT
036		74	SM+	091		25	25	146		69	DP
037		02	02	092		75	-	147		06	06
038		69	DP	093		43	PCL	148		32	MIT
039		20	20	094		26	26	149		01	1
040		97	DSD	095		54	-	150		44	SUM
041		01	01	096		65	-	151		51	51
042		95	=	097		53	-	152		32	MIT
043		04	4	098		43	PCL	153		98	ADM
044		23	IMP	099		24	24	154		43	PCL
045		64	PD-	100		75	-	155		29	29
046		03	03	101		43	PCL	156		75	-
047		69	DP	102		27	27	157		43	PCL
048		23	23	103		54	-	158		31	31
049		04	4	104		54	-	159		95	=
050		42	STD	105		34	CM	160		42	STD
051		01	01	106		55	-	161		04	04
052		97	DSD	107		03	3	162		32	MIT
053		13	03	108		55	-	163		61	PCL
054		15	=	109		61	31	164		50	50

TITLE _____ PAGE _____ OF _____
 TITRE _____ PAGE _____ VON _____

PROGRAMMER _____ DATE _____
 PROGRAMMIERER _____ DATUM _____
 PROGRAMMEUR _____

CODING FORM
 KODEFORM
 FEUILLE DE PROGRAMMATION

LO ADR	CODE KODE	KEY TASTE	COMMENTS BEMERKUNGEN	LO ADR	CODE KODE	KEY TASTE	COMMENTS BEMERKUNGEN	LO ADR	CODE KODE	KEY TASTE	COMMENTS BEMERKUNGEN
ADR	CODE	TOUCHE	COMMENTAIRES	ADR	CODE	TOUCHE	COMMENTAIRES	ADR	CODE	TOUCHE	COMMENTAIRES
165	74	OP		170	70	OP		275	74	OP	
166	04	04		171	71	OP		276	04	04	
167	71	XIT		172	72	OP		277	71	XIT	
168	69	OP		173	69	OP		278	69	OP	
169	06	06		174	04	04		279	06	06	
170	43	RCL		175	32	XIT		280	43	RCL	
171	29	29		176	69	OP		281	29	29	
172	85	+		177	06	06		282	85	+	
173	43	RCL		178	22	INV		283	43	RCL	
174	31	31		179	74	OP		284	31	31	
175	95	=		180	99	PRT		285	95	=	
176	42	STD		181	98	ADV		286	42	STD	
177	35	35		182	98	ADV		287	35	35	
178	32	XIT		183	98	ADV		288	32	XIT	
179	43	RCL		184	53	(		289	43	RCL	
180	51	51		185	43	RCL		290	51	51	
181	69	OP		186	32	32		291	69	OP	
182	04	04		187	85	+		292	04	04	
183	32	XIT		188	43	RCL		293	32	XIT	
184	69	OP		189	74	OP		294	69	OP	
185	06	06		190	54	)		295	06	06	
186	98	ADV		191	55	+		296	98	ADV	
187	36	PGM		192	02	2		297	36	PGM	
188	01	01		193	95	=		298	01	01	
189	71	SBR		194	32	XIT		299	71	SBR	
190	25	CLR		195	43	RCL		300	25	CLR	
191	43	RCL		196	53	53		301	43	RCL	
192	20	20		197	69	OP		302	20	20	
193	75	-		198	04	04		303	75	-	
194	43	RCL		199	32	XIT		304	43	RCL	
195	21	21		200	69	OP		305	21	21	
196	95	=		201	06	06		306	95	=	
197	78	Z+		202	53	53		307	78	Z+	
198	43	RCL		203	43	RCL		308	43	RCL	
199	22	22		204	33	33		309	22	22	
200	75	-		205	85	+		310	75	-	
201	43	RCL		206	43	RCL		311	43	RCL	
202	23	23		207	35	35		312	23	23	
203	95	=		208	54	)		313	95	=	
204	78	Z+		209	55	-		314	78	Z+	
205	43	RCL		210	02	2		315	43	RCL	
206	24	24		211	95	=		316	24	24	
207	75	-		212	32	XIT		317	75	-	
208	43	RCL		213	263	43	RCL	318	43	RCL	
209	25	35		214	54	54		319	25	35	
210	75	=		215	69	OP		320	75	=	
211	78	Z+		216	04	04		321	78	Z+	
212	43	RCL		217	32	XIT		322	43	RCL	
213	06	06		218	69	OP		323	06	06	
214	75	-		219	06	06		324	75	-	
215	43	RCL		220	53	(		325	43	RCL	
216	27	27		221	43	RCL		326	27	27	
217	95	=		222	32	32		327	95	=	
218	78	Z+		223	75	-		328	78	Z+	
219	79	-		224	43	RCL		329	79	-	

T TLE
TITEL
TITRE

PROGRAMMER
PROGRAMMIERER
PROGRAMMEUR

PAGE
SEITE
PAGE

OF
VON
DE

DATE
DATUM
DATE

CODING FORM
KODEFORM
FEUILLE DE PROGRAMMATION

LOC ADR	CODE KODE CODE	KEY TASTE TOUCHE	COMMENTS BEMERKUNGEN COMMENTAIRES	LOC ADR	CODE KODE CODE	KEY TASTE TOUCHE	COMMENTS BEMERKUNGEN COMMENTAIRES	LOC ADR	CODE KODE CODE	KEY TASTE TOUCHE	COMMENTS BEMERKUNGEN COMMENTAIRES
330		55	-	385		00	01	440		13	2
331		02	2	386		43	FCL	441		43	STD
333		95	=	387		40	40	442		45	43
333		32	XIT	388		69	DP	443		01	1
334		43	FCL	389		01	01	444		03	3
335		54	54	390		43	FCL	445		00	0
336		69	DP	391		41	41	446		02	2
337		04	04	392		69	DP	447		42	STD
338		32	XIT	393		02	02	448		50	50
339		69	DP	394		43	FCL	449		01	1
340		06	06	395		42	42	450		04	4
341		53	(	396		69	DP	451		00	0
342		43	RCL	397		03	03	452		02	2
343		32	32	398		43	RCL	453		42	STD
344		75	-	399		43	43	454		51	51
345		43	RCL	400		69	DP	455		61	GTD
346		35	35	401		04	04	456		12	B
347		54	)	402		69	DP	457		00	0
348		95	=	403		05	05	458		00	0
349		32	XIT	404		43	FCL	459		00	0
350		43	FCL	405		44	44	460		00	0
351		55	55	406		69	DP	461		00	0
352		69	DP	407		01	01	462		00	0
353		04	04	408		69	DP	463		00	0
354		32	XIT	409		02	02	464		00	0
355		69	DP	410		69	DP	465		00	0
356		06	06	411		03	03	466		00	0
357		53	(	412		69	DP	467		00	0
358		43	RCL	413		04	04	468		00	0
359		33	33	414		69	DP	469		00	0
360		75	-	415		05	05	470		00	0
361		43	RCL	416		98	ADV	471		00	0
362		34	34	417		98	ADV	472		00	0
363		54	)	418		98	ADV	473		00	0
364		95	=	419		43	RCL	474		00	0
365		32	XIT	420		45	45	475		00	0
366		43	RCL	421		69	DP	476		00	0
367		56	56	422		01	01	477		00	0
368		69	DP	423		43	FCL	478		00	0
369		04	04	424		46	46	479		00	0
370		32	XIT	425		69	DP				
371		69	DP	426		02	02				
372		06	06	427		43	FCL				
373		98	ADV	428		47	47				
374		98	ADV	429		69	DP				
375		98	ADV	430		03	03				
376		91	P13	431		43	FCL				
377		76	LBL	432		48	48				
378		11	A	433		69	DP				
379		25	CLR	434		04	04				
380		42	STD	435		69	DP				
381		38	38	436		05	05				
382		42	STD	437		02	2				
383		29	29	438		01	1				
384		69	DP	439		00	0				

TITLE X-Teil von ABX-Spektren

TITRE

PAGE

OF

SEITE

VON

PAGE

DE

DATE

DATUM

DATE

PROGRAMMIERER
PROGRAMMEUR

Partitioning (Op 17) L55 40 Library Module

Speicher-Berechnungsverteilung Software-Modul

Partition (Op 17)

Module enfichable

PROGRAM RECORD
PROGRAMM-BERICHT
FICHE PROGRAMME

Printer

Drucker

Cards

Karten

PROGRAM DESCRIPTION • PROGRAMM BESCHREIBUNG • DESCRIPTION DU PROGRAMME

Bestimmung der Intensitäten und Frequenzen der X- und C-Linien für X-Teile von ABX-Systemen. Das Zentrum des symmetrischen X-Teils erhält die Frequenz Null. Es werden nur Frequenzen mit einem Vorzeichen berechnet. Die zweiten Linien der X- und C-Liniensätze besitzen umgekehrtes Vorzeichen und liegen symmetrisch zu den ausgedruckten Linien. Die Linien mit der Intensität 1 werden nicht ausgedruckt. Ihre Position im X-Teil liegt bei $\pm 1/2(J(A,X) + J(B,X))$.

USER INSTRUCTIONS • BENÜTZER INSTRUCTIONS • MODE D'EMPLOI

STEP NUM.	PROCEDURE PROZEDUR PROCEDURE	ENTER EINGABE INTRODUIRE	PRESS BEFEHL APPUYER SUR	DISPLAY ANZEIGE AFFICHAGE
1	Eingabe der Schrittgröße für (A,B)	n	A	n
2	Eingabe der gewünschten Anzahl nach (A,B) variiert X-Teile	m	R/S	m
3	Eingabe von J(A,B)	i	B	i
4	Eingabe von J(A,X)	j	R/S	j
5	Eingabe von J(B,X)	k	R/S	k
6	Ausdruck des Parametersatzes			
	Ausdruck einer Tabelle mit den Kolonnen "SHIFT A,B", "INT. 'X'-LINIE", "FREQ. 'X'-LINIE", "INT. 'C'-LINIE", "FREQ. 'C'-LINIE"			

PARAMETER A,B INT. 'X'-LINIE

0.5	J A,B	0.9
0.0	J A,X	0.0001500891
0.0	J B,X	0.1

USER DEFINED KEYS
PROGRAMM-ADRESSTASTEN
TOUCHES UTILISATEURDA
REC

A	0
B	1
C	2
D	3
E	4
A	5
B	6
C	7
D	8
E	9
FLAGS CHAPÉAUX	0

SHIFT A,B

FREQ. 'X'-LINIE

0.	0.
1.	0.52304878
2.	1.414313562

INT. 'X'-LINIE

FREQ. 'C'-LINIE

0.1	0.58113285
0.0	0.01301019
0.0	0.011281142

TITLE
TITRE

PROGRAMMER
PROGRAMMIERER
PROGRAMMEUR

LOC ADR	LOC ADR	CODE KODE CODE	KEY TASTE TOUCHE	COMMENTS BEMERKUNGEN COMMENTAIRES
000	000			
001	001			
002	002			
003	003			
004	004			
005	005			
006	006			
007	007			
008	008			
009	009			
010	010			
011	011			
012	012			
013	013			
014	014			
015	015			
016	016			
017	017			
018	018			
019	019			
020	020			
021	021			
022	022			
023	023			
024	024			
025	025			
026	026			
027	027			
028	028			
029	029			
030	030			
031	031			
032	032			
033	033			
034	034			
035	035			
036	036			
037	037			
038	038			
039	039			
040	040			
041	041			
042	042			
043	043			
044	044			
045	045			
046	046			
047	047			
048	048			
049	049			
050	050			
051	051			
052	052			
053	053			
054	054			
055	055			
056	056			
057	057			
058	058			
059	059			
060	060			
061	061			
062	062			
063	063			
064	064			
065	065			
066	066			
067	067			
068	068			
069	069			
070	070			
071	071			
072	072			
073	073			
074	074			
075	075			
076	076			
077	077			
078	078			
079	079			
080	080			
081	081			
082	082			
083	083			
084	084			
085	085			
086	086			
087	087			
088	088			
089	089			
090	090			
091	091			
092	092			
093	093			
094	094			
095	095			
096	096			
097	097			
098	098			
099	099			
100	100			
101	101			
102	102			
103	103			
104	104			
105	105			
106	106			
107	107			
108	108			
109	109			
110	110			
111	111			
112	112			
113	113			
114	114			
115	115			
116	116			
117	117			
118	118			
119	119			
120	120			
121	121			
122	122			
123	123			
124	124			
125	125			
126	126			
127	127			
128	128			
129	129			
130	130			
131	131			
132	132			
133	133			
134	134			
135	135			
136	136			
137	137			
138	138			
139	139			
140	140			
141	141			
142	142			
143	143			
144	144			
145	145			
146	146			
147	147			
148	148			
149	149			
150	150			
151	151			
152	152			
153	153			
154	154			
155	155			
156	156			
157	157			
158	158			
159	159			
160	160			
161	161			
162	162			
163	163			
164	164			

- 187 -

PAGE
SEITE
PAGE
OF
VON
DE
DATE
DATUM
DATE

CODING FORM
KODEFORM
FEUILLE DE PROGRAMMATION

LOC ADR	LOC ADR	CODE KODE CODE	KEY TASTE TOUCHE	COMMENTS BEMERKUNGEN COMMENTAIRES
111	111			
112	112			
113	113			
114	114			
115	115			
116	116			
117	117			
118	118			
119	119			
120	120			
121	121			
122	122			
123	123			
124	124			
125	125			
126	126			
127	127			
128	128			
129	129			
130	130			
131	131			
132	132			
133	133			
134	134			
135	135			
136	136			
137	137			
138	138			
139	139			
140	140			
141	141			
142	142			
143	143			
144	144			
145	145			
146	146			
147	147			
148	148			
149	149			
150	150			
151	151			
152	152			
153	153			
154	154			
155	155			
156	156			
157	157			
158	158			
159	159			
160	160			
161	161			
162	162			
163	163			
164	164			

TITLE TITEL TITRE	PAGE SEITE PAGE	OF VON DE	CODING FORM KODEFORM FEUILLE DE PROGRAMMATION
PROGRAMMER PROGRAMMIERER PROGRAMMEUR	DATE DATUM DATE		

LOC ADR	CODE KODE CODE	KEY TASTE TOUCHE	COMMENTS BEMERKUNGEN COMMENTAIRES	LOC ADR	CODE KODE CODE	KEY TASTE TOUCHE	COMMENTS BEMERKUNGEN COMMENTAIRES	LOC ADR	CODE KODE CODE	KEY TASTE TOUCHE	COMMENTS BEMERKUNGEN COMMENTAIRES
165	00	0		220	53	(		275	99	PRT	
166	00	0		221	43	PCL		276	43	PCL	
167	00	0		222	13	13		277	05	25	
168	00	0		223	75	-		278	44	SUM	
169	00	0		224	43	PCL		279	13	13	
170	00	0		225	14	14		280	92	RTN	
171	00	0		226	54	)		281	76	LBL	
172	00	0		227	54	)		282	22	INV	
173	00	0		228	22	INV		283	71	SEP	
174	00	0		229	30	TAN		284	28	LOG	
175	76	LBL		230	55	+		285	71	SEP	
176	38	LOG		231	02	2		286	85	+	
177	53			232	54	)		287	71	SEP	
178	53	(		233	42	STD		288	77	GE	
179	43	RCL		234	16	16		289	97	DEC	
180	11	11		235	53	(		290	00	00	
181	75	-		236	43	RCL		291	22	INV	
182	43	RCL		237	15	13		292	92	RTN	
183	12	12		238	75	-		293	68	NOP	
184	54	)		239	43	RCL		294	68	NOP	
185	55	+		240	16	16		295	76	LBL	
186	02	2		241	54	)		296	32	INT	
187	54	)		242	42	STD		297	71	SEP	
188	42	STD		243	17	17		298	28	LOG	
189	14	14		244	38	SIN		299	71	SEP	
190	92	RTN		245	33	33		300	85	+	
191	68	NOP		246	42	STD		301	71	SEP	
192	68	NOP		247	13	13		302	78	2+	
193	76	LBL		248	43	RCL		303	97	DEC	
194	85	+		249	17	17		304	01	01	
195	53			250	38	LOG		305	32	INT	
196	53			251	33	33		306	92	RTN	
197	43	RCL		252	42	STD		307	76	LBL	
198	10	10		253	17	17		308	55	+	
199	55	+		254	92	RTN		309	53	(	
200	53			255	68	NOP		310	53	(	
201	43	PCL		256	68	NOP		311	43	PCL	
202	13	13		257	76	LBL		312	10	10	
203	85	+		258	75	-		313	55	+	
204	43	RCL		259	43	PCL		314	02	2	
205	14	14		260	17	17		315	54	)	
206	54	)		261	99	PRT		316	55	+	
207	54	)		262	43	RCL		317	53	(	
208	22	INV		263	05	05		318	53	(	
209	30	TAN		264	44	SUM		319	43	RCL	
210	55	+		265	13	13		320	15	15	
211	02	2		266	92	RTN		321	65	x	
212	54	)		267	00	0		322	02	2	
213	42	STD		268	75	-		323	54	)	
214	15	15		269	92	RTN		324	38	SIN	
215	53	(		270	68	NOP		325	54	)	
216	53	(		271	76	LBL		326	54	)	
217	43	RCL		272	65	x		327	42	STD	
218	10	10		273	43	RCL		328	19	19	
219	55	-		274	13	13		329	53	(	

FILE
TEL
TRE

PROGRAMMER
PROGRAMMIERER
PROGRAMMEUR

PAGE
SEITE
PAGE

OF
VON
DE

DATE
DATUM
DATE

CODING FORM
KODEFORM
FEUILLE DE PROGRAMMATION

LOC ADR	CODE KODE	KEY TASTE	COMMENTS BEMERKUNGEN	LOC ADR	CODE KODE	KEY TASTE	COMMENTS BEMERKUNGEN	LOC ADR	CODE KODE	KEY TASTE	COMMENTS BEMERKUNGEN	LOC ADR	CODE KODE	KEY TASTE	COMMENTS BEMERKUNGEN
DR	CODE	TOUCHE	COMMENTAIRES	DR	CODE	TOUCHE	COMMENTAIRES	DR	CODE	TOUCHE	COMMENTAIRES	DR	CODE	TOUCHE	COMMENTAIRES
330	53	.		385	71	BER		440	45	FE					
331	43	ROL		386	53	LOG		441	40	ROL					
332	10	10		387	71	BER		442	15	15					
333	45	-		388	55	-		443	44	NUM					
334	02	2		389	71	BER		444	13	13					
335	54	-		390	55	-		445	91	132					
336	55	-		391	71	BER		446	04	04					
337	56	-		392	71	BER		447	44	NUM					
338	53	-		393	57	132		448	93	NUM					
339	43	ROL		394	58	02		449	76	LBL					
340	16	16		395	40	STD		450	11	11					
341	55	-		396	32	RTN		451	43	STD					
342	52	2		397	76	LBL		452	05	05					
343	54	-		398	41	ROL		453	93	RTN					
344	58	SIN		399	43	ROL		454	43	STD					
345	54	-		400	32	32		455	06	06					
346	54	-		401	50	I-I		456	92	RTN					
347	40	STD		402	33	PRT		457	42	STD					
348	20	20		403	41	ROL		458	07	07					
349	53	-		404	05	05		459	91	FE					
350	53	-		405	44	SUM		460	76	LBL					
351	43	ROL		406	13	13		461	77	GE					
352	41	11		407	32	RTN		462	43	ROL					
353	55	+		408	38	NOP		463	14	14					
354	43	ROL		409	76	LBL		464	50	I-I					
355	12	12		410	47	CMS		465	32	XAT					
356	54	-		411	71	BER		466	43	ROL					
357	55	+		412	38	LOG		467	13	13					
358	52	2		413	71	BER		468	50	I-I					
359	54	-		414	35	+		469	12	12					
360	42	STD		415	71	BER		470	77	GE					
361	31	31		416	55	-		471	65						
362	53	-		417	71	BER		472	71	BER					
363	43	ROL		418	70	PRT		473	75	-					
364	19	19		419	37	132		474	92	RTN					
365	75	-		420	33	03		475	76	LBL					
366	43	ROL		421	47	CMS		476	78	17					
367	20	20		422	32	RTN		477	43	ROL					
368	54	-		423	38	NOP		478	14	14					
369	42	STD		424	76	LBL		479	50	I-I					
370	52	32		425	48	END		480	32	13					
371	53	-		426	43	ROL		481	43	ROL					
372	43	ROL		427	71	BER		482	13	13					
373	19	19		428	70	I-I		483	50	I-I					
374	55	+		429	33	PRT		484	32	132					
375	43	ROL		430	43	ROL		485	77	GE					
376	20	20		431	35	05		486	79	-					
377	54	-		432	44	SUM		487	71	BER					
378	42	STD		433	73	-		488	65						
379	53	33		434	33	RTN		489	92	RTN					
380	32	RTN		435	38	NOP		490	76	LBL					
381	38	NOP		436	76	LBL		491	78	17					
382	38	NOP		437	48	END		492	43	ROL					
383	76	LBL		438	43	ROL		493	14	14					
384	65	3AT		439	13	13		494	50	I-I					

TITLE	PAGE	OF
TITEL	SEITE	VON
TITRE	PAGE	DE
PROGRAMMER	DATE	
PROGRAMMIERER	DATUM	
PROGRAMMEUR	DATE	

CODING FORM
KODEFORM
FEUILLE DE PROGRAMMATION

LOC	CODE	KEY	COMMENTS	LOC	CODE	KEY	COMMENTS
ADR	KODE	TASTE	BEMERKUNGEN	ADR	KODE	TASTE	BEMERKUNGEN
ADR	CODE	TOUCHE	COMMENTAIRES	ADR	CODE	TOUCHE	COMMENTAIRES
0005							
0006							
0007							
0008							
0009							
0010							
0011							
0012							
0013							
0014							
0015							
0016							
0017							
0018							
0019							
0020							
0021							
0022							
0023							
0024							
0025							
0026							
0027							
0028							
0029							
0030							
0031							
0032							
0033							
0034							
0035							
0036							
0037							
0038							
0039							
0040							
0041							
0042							
0043							
0044							
0045							
0046							
0047							
0048							
0049							
0050							
0051							
0052							
0053							
0054							
0055							
0056							
0057							
0058							
0059							
0060							
0061							
0062							
0063							
0064							
0065							
0066							
0067							
0068							
0069							
0070							
0071							
0072							
0073							
0074							
0075							
0076							
0077							
0078							
0079							
0080							
0081							
0082							
0083							
0084							
0085							
0086							
0087							
0088							
0089							
0090							
0091							
0092							
0093							
0094							
0095							
0096							
0097							
0098							
0099							
0100							

USER DEFINED KEYS
PROGRAMMIERADRESSTASTEN
TOUCHES UTILISATEUR

0001	0002	0003	0004	0005	0006	0007	0008	0009	0010
0011	0012	0013	0014	0015	0016	0017	0018	0019	0020
0021	0022	0023	0024	0025	0026	0027	0028	0029	0030
0031	0032	0033	0034	0035	0036	0037	0038	0039	0040
0041	0042	0043	0044	0045	0046	0047	0048	0049	0050
0051	0052	0053	0054	0055	0056	0057	0058	0059	0060
0061	0062	0063	0064	0065	0066	0067	0068	0069	0070
0071	0072	0073	0074	0075	0076	0077	0078	0079	0080
0081	0082	0083	0084	0085	0086	0087	0088	0089	0090
0091	0092	0093	0094	0095	0096	0097	0098	0099	0100

TITLE Kopplungskonstanten

TITRE PROGRAMMEUR Polarych Polli

PROGRAMMEUR

Speicher-Bereichsverteilung

Partition (Op 17)

PAGE

SEITE

PAGE

DATE

DATUM

DATE

OF

VON

DE

3.2.78

PROGRAM RECORD PROGRAMM-BERICHT FICHE PROGRAMME

Printer

Drucker

Imprimante

Cards

Karten

Cartes

PROGRAM DESCRIPTION • PROGRAMM BESCHREIBUNG • DESCRIPTION DU PROGRAMME

Das Programm berechnet die Kopplungskonstanten in Multipletten.

Die grösste mögliche Multiplizität, die verarbeitet wird entspricht vier Quartetts.

Fehlerbedingungen: Wird unter Lbl A ein Dublett eingegeben, so blinkt die Anzeige. Dies zeigt an, dass die Standardabweichung nicht gültig ist.

USER INSTRUCTIONS • BENUTZER INSTRUCTIONS • MODE D'EMPLOI

STEP NUMERO	PROCEDURE PROZEDUR PROCEDURE	ENTER EINGABE INTRODUIRE	PRESS BEFEHL APPUYER SUR	DISPLAY ANZEIGE AFFICHAGE
1	Eingabe der Linienzahl im ersten Multiplet	n		A
	Eingabe der n Frequenzen			R/S
2	Eingabe der Linienzahl des zweiten Multipletts			B
	Eingabe der n Frequenzen			R/S
3	Wiederholung des Vorgehens			C
4	unter 1 und 2			D
5	Berechnung von J(1) und J(2) (m = Anzahl der Multiplette)	m		E
	Anzeige J(1)			
	Anzeige der Standardabweichung			x t
	Anzeige J(2)			R/S
	Anzeige der Standardabweichung			x t

USER DEFINED KEYS PROGRAMM-ADRESSTASTEN TOUCHES UTILISATEUR	DATA REGISTERS DATENSPEICHER REGISTRES-MEMOIRE (INV. 100)	LABELS (Op 08) LABELS (Op 08) LABELS (Op 08)
001 A	0	INV INV CE CLR
002 B	1	1/2 STO RCL SUM
003 C	2	EE () + GTO X
004 D	3	SBR - - - - -
005 E	4	CLR INV
006 F	5	1/2 P-R
007 G	6	1/2 P-R
008 H	7	1/2 P-R
009 I	8	1/2 P-R
010 J	9	1/2 P-R
011 K		1/2 P-R
012 L		1/2 P-R
013 M		1/2 P-R
014 N		1/2 P-R
015 O		1/2 P-R
016 P		1/2 P-R
017 Q		1/2 P-R
018 R		1/2 P-R
019 S		1/2 P-R
020 T		1/2 P-R
021 U		1/2 P-R
022 V		1/2 P-R
023 W		1/2 P-R
024 X		1/2 P-R
025 Y		1/2 P-R
026 Z		1/2 P-R
027		1/2 P-R
028		1/2 P-R
029		1/2 P-R
030		1/2 P-R
031		1/2 P-R
032		1/2 P-R
033		1/2 P-R
034		1/2 P-R
035		1/2 P-R
036		1/2 P-R
037		1/2 P-R
038		1/2 P-R
039		1/2 P-R
040		1/2 P-R
041		1/2 P-R
042		1/2 P-R
043		1/2 P-R
044		1/2 P-R
045		1/2 P-R
046		1/2 P-R
047		1/2 P-R
048		1/2 P-R
049		1/2 P-R
050		1/2 P-R
051		1/2 P-R
052		1/2 P-R
053		1/2 P-R
054		1/2 P-R
055		1/2 P-R
056		1/2 P-R
057		1/2 P-R
058		1/2 P-R
059		1/2 P-R
060		1/2 P-R
061		1/2 P-R
062		1/2 P-R
063		1/2 P-R
064		1/2 P-R
065		1/2 P-R
066		1/2 P-R
067		1/2 P-R
068		1/2 P-R
069		1/2 P-R
070		1/2 P-R
071		1/2 P-R
072		1/2 P-R
073		1/2 P-R
074		1/2 P-R
075		1/2 P-R
076		1/2 P-R
077		1/2 P-R
078		1/2 P-R
079		1/2 P-R
080		1/2 P-R
081		1/2 P-R
082		1/2 P-R
083		1/2 P-R
084		1/2 P-R
085		1/2 P-R
086		1/2 P-R
087		1/2 P-R
088		1/2 P-R
089		1/2 P-R
090		1/2 P-R
091		1/2 P-R
092		1/2 P-R
093		1/2 P-R
094		1/2 P-R
095		1/2 P-R
096		1/2 P-R
097		1/2 P-R
098		1/2 P-R
099		1/2 P-R
100		1/2 P-R

TITEL TITEL TITRE		PAGE SEITE PAGE		OF VON DE		CODING FORM KODEFORM FEUILLE DE PROGRAMMATION	
PROGRAMMIER PROGRAMMIER PROGRAMMEUR		DATE DATUM DATE					

LOC	CODE	KEY	COMMENTS	LOC	CODE	KEY	COMMENTS	LOC	CODE	KEY	COMMENTS
ADR	CT	CT	REMARKS	ADR	CT	CT	REMARKS	ADR	CT	CT	REMARKS
				056	36		PGM	111	43		RCL
				057	01	01		112	13	13	
				058	71		SBR	113	32		INT
				059	25		CLR	114	43		RCL
				060	43		RCL	115	14	14	
				061	10	10		116	31	R	S
				062	49		PRC	117	76		LBL
				063	17			118	59		
				064	68		HOP	119	59		INT
				065	43		RCL	120	50		INT
				066	10	10		121	42		STD
				067	68		HOP	122	10	10	
				068	32		INV	123	32		INT
				069	44		SUM	124	04		
				070	15	15		125	01		
				071	02	2		126	77		
				072	04	4		127	03	0	
				073	42		STD	128	00	00	
				074	09	09		129	00	0	
				075	02	2		130	67		EO
				076	04	4		131	03	03	
				077	85	+		132	05	05	
				078	43		RCL	133	43		RCL
				079	10	10		134	10	10	
				080	95	=		135	42		STD
				081	42		STD	136	15	15	
				082	07	07		137	13	13	
				083	64		IF	138	10		
				084	29	29		139	42		STD
				085	69		OP	140	07	07	
				086	27	27		141	68		HOP
				087	71		SBR	142	24		
				088	09	09		143	27	27	
				089	75	-		144	25		CLR
				090	73		PC+	145	91		
				091	07	07		146	72		ST+
				092	95	=		147	07	07	
				093	78		I+	148	97		DSC
				094	97		DSC	149	15	15	
				095	15	15		150	01	01	
				096	00	00		151	42	42	
				097	83	83		152	02	2	
				098	79		R	153	00	0	
				099	42		STD	154	42		STD
				100	13	13		155	07	07	
				101	32		INV	156	02	2	
				102	79		R	157	01	1	
				103	42		STD	158	42		STD
				104	14	14		159	08	08	
				105	43		RCL	160	43		RCL
				106	13	13		161	10	10	
				107	32		INT	162	42		STD
				108	43		RCL	163	15	15	
				109	13	13		164	10	10	

TITLE
TITEL
TITRE

PAGE OF
PAGE VON
PAGE DE

PROGRAMMER
PROGRAMMIERER
PROGRAMMEUR

DATE
DATUM
DATE

CODING FORM
KODEFORM
FEUILLE DE PROGRAMMATION

LOGRAMMEUR				DATE							
LOC ADR	CODE CODE	KEY TASTE TOUCHE	COMMENTS BEMERKUNGEN COMMENTAIRES	LOC ADR	CODE CODE	KEY TASTE TOUCHE	COMMENTS BEMERKUNGEN COMMENTAIRES	LOC ADR	CODE CODE	KEY TASTE TOUCHE	COMMENTS BEMERKUNGEN COMMENTAIRES
1	00			1	00			1	00		
2	00			2	00			2	00		
3	00			3	00			3	00		
4	00			4	00			4	00		
5	00			5	00			5	00		
6	00			6	00			6	00		
7	00			7	00			7	00		
8	00			8	00			8	00		
9	00			9	00			9	00		
10	00			10	00			10	00		
11	00			11	00			11	00		
12	00			12	00			12	00		
13	00			13	00			13	00		
14	00			14	00			14	00		
15	00			15	00			15	00		
16	00			16	00			16	00		
17	00			17	00			17	00		
18	00			18	00			18	00		
19	00			19	00			19	00		
20	00			20	00			20	00		
21	00			21	00			21	00		
22	00			22	00			22	00		
23	00			23	00			23	00		
24	00			24	00			24	00		
25	00			25	00			25	00		
26	00			26	00			26	00		
27	00			27	00			27	00		
28	00			28	00			28	00		
29	00			29	00			29	00		
30	00			30	00			30	00		
31	00			31	00			31	00		
32	00			32	00			32	00		
33	00			33	00			33	00		
34	00			34	00			34	00		
35	00			35	00			35	00		
36	00			36	00			36	00		
37	00			37	00			37	00		
38	00			38	00			38	00		
39	00			39	00			39	00		
40	00			40	00			40	00		
41	00			41	00			41	00		
42	00			42	00			42	00		
43	00			43	00			43	00		
44	00			44	00			44	00		
45	00			45	00			45	00		
46	00			46	00			46	00		
47	00			47	00			47	00		
48	00			48	00			48	00		
49	00			49	00			49	00		
50	00			50	00			50	00		
51	00			51	00			51	00		
52	00			52	00			52	00		
53	00			53	00			53	00		
54	00			54	00			54	00		
55	00			55	00			55	00		
56	00			56	00			56	00		
57	00			57	00			57	00		
58	00			58	00			58	00		
59	00			59	00			59	00		
60	00			60	00			60	00		
61	00			61	00			61	00		
62	00			62	00			62	00		
63	00			63	00			63	00		
64	00			64	00			64	00		
65	00			65	00			65	00		
66	00			66	00			66	00		
67	00			67	00			67	00		
68	00			68	00			68	00		
69	00			69	00			69	00		
70	00			70	00			70	00		
71	00			71	00			71	00		
72	00			72	00			72	00		
73	00			73	00			73	00		
74	00			74	00			74	00		
75	00			75	00			75	00		
76	00			76	00			76	00		
77	00			77	00			77	00		
78	00			78	00			78	00		
79	00			79	00			79	00		
80	00			80	00			80	00		
81	00			81	00			81	00		
82	00			82	00			82	00		
83	00			83	00			83	00		
84	00			84	00			84	00		
85	00			85	00			85	00		
86	00			86	00			86	00		
87	00			87	00			87	00		
88	00			88	00			88	00		
89	00			89	00			89	00		
90	00			90	00			90	00		
91	00			91	00			91	00		
92	00			92	00			92	00		
93	00			93	00			93	00		
94	00			94	00			94	00		
95	00			95	00			95	00		
96	00			96	00			96	00		
97	00			97	00			97	00		
98	00			98	00			98	00		
99	00			99	00			99	00		
100	00			100	00			100	00		
101	00			101	00			101	00		
102	00			102	00			102	00		
103	00			103	00			103	00		
104	00			104	00			104	00		
105	00			105	00			105	00		
106	00			106	00			106	00		
107	00			107	00			107	00		
108	00			108	00			108	00		
109	00			109	00			109	00		
110	00			110	00			110	00		
111	00			111	00			111	00		
112	00			112	00			112	00		
113	00			113	00			113	00		
114	00			114	00			114	00		
115	00			115	00			115	00		
116	00			116	00			116	00		
117	00			117	00			117	00		
118	00			118	00			118	00		
119	00			119	00			119	00		
120	00			120	00			120	00		
121	00			121	00			121	00		
122	00			122	00			122	00		
123	00			123	00			123	00		
124	00			124	00			124	00		
125	00			125	00			125	00		
126	00			126	00			126	00		
127	00			127	00			127	00		
128	00			128	00			128	00		
129	00			129	00			129	00		
130	00			130	00			130	00		
131	00			131	00			131	00		
132	00			132	00			132	00		
133	00			133	00			133	00		
134	00			134	00			134	00		
135	00			135	00			135	00		
136	00			136	00			136	00		
137	00			137	00			137	00		
138	00			138	00			138	00		
139	00			139	00			139	00		
140	00			140	00			140	00		
141	00			141	00			141	00		
142	00			142	00			142	00		
143	00			143	00			143	00		
144	00			144	00			144	00		
145	00			145	00			145	00		
146	00			146	00			146	00		
147	00			147	00			147	00		
148	00			148	00			148	00		
149	00			149	00			149	00		
150	00			150	00			150	00		
151	00			151	00			151	00		
152	00			152	00			152	00		
153	00			153	00			153	00		
154	00			154	00			1			

TITLE Referenzlinie

TITEL

TITRE

PAGE OF

SEITE VON

PAGE DE

DATE

DATE

DATE

PROGRAMMER HUICRYN 8211

PROGRAMMEUR

PROGRAMMEUR

Partitioning (Op 17)

Speicher-Bereichsverteilung

Partition (Op 17)

Library Module

Software-Modul

Module enfichable

PROGRAM RECORD
PROGRAMM-BERICHT
FICHE PROGRAMME

Printer

Drucker

Imprimante

Cards 1

Karten

Cartes

PROGRAM DESCRIPTION • PROGRAMM BESCHREIBUNG • DESCRIPTION DU PROGRAMME

Bezogen auf eine Referenzlinie (z.B. Dicxan in []) werden die chemischen Verschiebungen in ppm berechnet und ausgedruckt.

USER INSTRUCTIONS • BENUTZER INSTRUKTIONEN • MODE D'EMPLOI

STEP SCHRITT ÉTAPE	PROCEDURE PROZEDUR PROCEDURE	ENTER EINGABE INTRODUIRE	PRESS BEFEHL APPUYER SUR	DISPLAY ANZEIGE AFFICHAGE
1	Initialisierung Frequenz (Hz) der Referenzlinie im Spektrum Frequenz der Referenzlinie (TMS) Spektrometerfrequenz (MHz)			
2	Eingabe der Linien des Spektrums (Hz)			R/S
3	Ausdruck der chemischen Verschieb. (ppm)			
				REFERENZLINIE *****
				1500. 1400. 25.14

USER DEFINED KEYS
PROGRAMM-ADRESSTASTEN
TOUCHES UTILISATEURDATA REGISTERS
DATENSPEICHER
REGISTRES-MEMOIRE (INV 10)

001	11	H	0	0
005	12	C	1	1
173	13	C	2	2
112	34	PP	1	1
119	70	-	4	4
128	88	-	5	5
145	43	RCL	6	6
159	44	SUM	7	7
167	45	=	8	8
187	38	NR	8	8
213	39	PRT	9	9

PPM

57.68

51.71

FLAG
DRAPEAU

0

1

2

3

4

5

TITLE
TITEL
TITRE

PAGE
SEITE
PAGE

OF
VON
DE

PROGRAMMER
PROGRAMMIERER
PROGRAMMEUR

DATE
DATUM
DATE

CODING FORM
KODEFORM
FEUILLE DE PROGRAMMATION

LOC ADR	CODE CODE	KEY TASTE TOUCHE	COMMENTS BEMERKUNGEN COMMENTAIRES	LOC ADR	CODE CODE	KEY TASTE TOUCHE	COMMENTS BEMERKUNGEN COMMENTAIRES	LOC ADR	CODE CODE	KEY TASTE TOUCHE	COMMENTS BEMERKUNGEN COMMENTAIRES
000	76	00		055	40	STO		110	91	R	
001	11	01		056	40	STO		111	76	LBL	
002	69	DP		057	21	21		112	14	00	
003	10	00		058	98	RTN		113	01	1	
004	71	LBL		059	99	FFT		114	94	-	
005	69	DP		060	98	ADV		115	94	00	
006	69	DP		061	42	STO		116	91	R	
007	05	05		062	22	22		117	98	RTN	
008	69	DP		063	92	RTN		118	76	LBL	
009	00	00		064	91	R		119	75	-	
010	43	ROL		065	76	LBL		120	69	ROL	
011	04	04		066	11	E		121	00	01	
012	69	DP		067	71	FFT		122	00	00	
013	01	01		068	44	SUM		123	43	ROL	
014	43	ROL		069	71	FFT		124	02	02	
015	05	05		070	85	+		125	67	EQ	
016	69	DP		071	91	R		126	94	00	
017	02	02		072	76	LBL		127	98	RTN	
018	43	ROL		073	13	0		128	76	LBL	
019	06	06		074	98	ADV		129	89	+	
020	69	DP		075	98	ADV		130	89	CLR	
021	03	00		076	35	CLP		131	91	R	
022	69	DP		077	98	ADV		132	99	FFT	
023	05	05		078	42	STO		133	72	STN	
024	69	DP		079	02	03		134	01	01	
025	00	00		080	53			135	69	DP	
026	71	LBL		081	43	ROL		136	20	20	
027	69	DP		082	21	21		137	69	DP	
028	69	DP		083	75	-		138	21	21	
029	05	05		084	43	ROL		139	71	FFT	
030	98	ADV		085	20	20		140	75	-	
031	35	CLP		086	54			141	61	STO	
032	32	00		087	42	STO		142	85	-	
033	75	00		088	20	20		143	92	RTN	
034	69	DP		089	71	FFT		144	76	LBL	
035	05	05		090	44	SUM		145	69	ROL	
036	69	DP		091	71	FFT		146	43	ROL	
037	69	DP		092	40	ROL		147	10	10	
038	05	05		093	71	FFT		148	74	00	
039	01	01		094	44	00		149	11	01	
040	69	DP		095	69	DP		150	69	DP	
041	69	DP		096	00	00		151	21	01	
042	69	DP		097	40	ROL		152	69	DP	
043	69	DP		098	35	CLP		153	69	DP	
044	69	DP		099	69	DP		154	69	DP	
045	69	DP		100	69	DP		155	69	DP	
046	69	DP		101	69	DP		156	69	DP	
047	69	DP		102	69	DP		157	69	DP	
048	69	DP		103	69	DP		158	69	DP	
049	69	DP		104	69	DP		159	69	DP	
050	69	DP		105	69	DP		160	69	DP	
051	69	DP		106	69	DP		161	69	DP	
052	69	DP		107	69	DP		162	69	DP	
053	69	DP		108	69	DP		163	69	DP	
054	69	DP		109	69	DP		164	69	DP	
055	69	DP		110	69	DP		165	69	DP	
056	69	DP		111	69	DP		166	69	DP	
057	69	DP		112	69	DP		167	69	DP	
058	69	DP		113	69	DP		168	69	DP	
059	69	DP		114	69	DP		169	69	DP	
060	69	DP		115	69	DP		170	69	DP	
061	69	DP		116	69	DP		171	69	DP	
062	69	DP		117	69	DP		172	69	DP	
063	69	DP		118	69	DP		173	69	DP	
064	69	DP		119	69	DP		174	69	DP	
065	69	DP		120	69	DP		175	69	DP	

TITLE _____ PAGE _____ OF _____
 TITEL _____ SEITE _____ VON _____
 PROGRAMMER _____ DATE _____
 PROGRAMMEUR _____ DATUM _____

CODING FORM
 KODEFORM
 FEUILLE DE PROGRAMMATION

LOC ADR	CODE KODE	KEY TASTE	COMMENTS BEMERKUNGEN	LOC ADR	CODE KODE	KEY TASTE	COMMENTS BEMERKUNGEN	LOC ADR	CODE KODE	KEY TASTE	COMMENTS BEMERKUNGEN
ADR	CODE	TOUCHE	COMMENTAIRES	ADR	CODE	TOUCHE	COMMENTAIRES	ADR	CODE	TOUCHE	COMMENTAIRES
165	76	LBL		220	69	OF					
166	95	=									
167	58	FI									
168	02	02									
169	73	RC*									
170	01	01									
171	55										
172	43	RCL									
173	03										
174	99	=									
175	99	PR*									
176	09	OF									
177	03										
178	03										
179	03										
180	03										
181	03										
182	03										
183	03										
184	03										
185	03										
186	03										
187	03										
188	03										
189	03										
190	03										
191	00	00									
192	43	RCL									
193	03	03									
194	69	OP									
195	01	01									
196	43	RCL									
197	07	OP									
198	69	OP									
199	02	02									
200	43	RCL									
201	03	03									
202	69	OP									
203	03										
204	43	RCL									
205	03	03									
206	69	OP									
207	04	04									
208	69	OP									
209	03	03									
210	91	R									
211	91	R									
212	73	LBL									
213	43	RCL									
214	43	RCL									
215	03	03									
216	69	OP									
217	01	01									
218	03	OP									
219	03										

MERGED CODES
 KOMBINATIONS-KODES
 TOUCHES COMBINEES

62	72	STO	83	GTO
63	73	RCL	84	INV
64	74	SUM	92	INV

Dank

- Meiner lieben Evelyne danke ich herzlich für ihr Verständnis mir und der Chemie gegenüber. Vor allem danke ich Evelyne für die sorgfältige Reinschrift dieser Dissertation.
- Frau Margrith Salzmann, welche einen grossen Teil der zeichnerischen Arbeit erledigte, danke ich herzlich für ihre Mitarbeit.
- Frau Ruth Schärer und allen jenen Freunden und Bekannten, welche während der "Druckperiode" für die Reinschrift sich bereitfanden, unsere beiden kleinen Töchter zu hüten sei ebenfalls herzlich gedankt.
- Den Herren dipl. chem. Robert Dannecker und Sasank Mohanti danke ich für die gute Mitarbeit im Rahmen ihrer synthetischen Schlussarbeiten.
- Fräulein dipl. chem. Eleftheria Askitoğlu und den Herren dipl. chem. Hardy Kühne und Rudolf Gretler verdanke ich die in Kapitel IV.2. aufgeführten ^{13}C -markierten Substanzen.
- Herrn dipl. chem. Felix Ruther danke ich für die Uebersetzung von ^{13}C -markiertem Lysin.
- Herrn Dr. Peter Bigler danke ich für die Erlaubnis zur Reproduktion von Figur 9.
- Meinen Kollegen Dr. Roger Hollenstein und Dr. Peter Bigler danke ich für die gewissenhafte Durchsicht der Reinschrift.

Literaturverzeichnis

1. J. Kowalewski, "Calculations of Nuclear Spin-Spin Coupling Constants" in Progress in NMR Spectroscopy, 1977, Vol. 11, pp. 1-78, Pergamon Press (1978)
2. J.N. Murrell, "The Theory of Nuclear Spin-Spin Coupling in High Resolution NMR Spectroscopy" in Progress in NMR-Spectroscopy 1970, Vol. 6, pp. 1-60, Pergamon Press (1971)
3. N.F. Ramsey, Phys. Rev. 91, 303 (1953)
4. J.A. Pople and D.P. Santry, Mol. Phys. 9, 1 (1964)
5. H.M. McConnell, J.Chem. Phys. 24, 460 (1956)
6. P. Lazzaretti, F. Taddei, and R. Zanasi, J. Am. Chem. Soc. 98, 7989 (1976)
7. E.A.G. Armour and A.J. Stone, Proc. Roy. Soc. A 302, 25 (1967)
8. W.T. Borden, "Modern Molecular Orbital Theory for Organic Chemists," Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey (1975)
9. J.G. Csizmadia, "Theory and Practice of MO-Calculation on Organic Molecules," in Progress in Theoretical Organic Chemistry, Vol.1, 1976, Elsevier Scientific Publ. Company, Amsterdam
10. J.A. Pople and D.L. Beveridge, Approximate Molecular Orbital Theory, McGraw Hill, New York (1970)
11. G.J. Karabatsos, J.D. Graham, and F.M. Vane, J.Am. Chem. Soc. 84, 37 (1962)
12. U. Vögeli, Dissertation, Universität Zürich (1978)
13. H. Egli and W.v. Philipsborn, Tetrahedron Lett. 1979, 4265
14. G.W. Smith, J. Chem. Phys. 39, 2031 (1963)
15. D.M. Graham and C.E. Holloway, Can. J. Chem. 41, 2114 (1963)
16. V.S. Watts and J.H. Goldstein, J.Chem.Phys. 46, 4165 (1967)

17. S. Meiboom and L.C. Snyder, J.Am. Chem.Soc. 89, 1038 (1967)
18. C.S. Foote, Tetrahedron Lett. 1963, 579
19. E.W. Garbisch Jr. and M.G. Griffith, J.Am.Chem. Soc. 90, 6544 (1968)
20. N. Muller and D.E. Pritchard, J.Chem.Phys. 31, 768, 1471 (1959)
21. Z.B. Maksic, M. Eckert-Maksic, and M. Randic, Theor. Chim. Acta 22, 70 (1971)
22. G.L. Maciel, J.W. McIver, N.S. Ostlund, and J.A. Pople, J.Am.Chem.Soc. 92, 1 (1970)
23. R.M. Lynden-Bell and N.A. Sheppard, Proc.Roy.Soc., Ser A 269, 385 (1962)
24. P.Diehl, H. Bösiger and J. Jokisaari, Org.Magn.Reson. 12, 282 (1979)
25. K. Frei and H.J. Bernstein, J.Chem.Phys. 38, 1216 (1963)
26. H. Günther und W. Herrig, Chem. Ber.106, 3938 (1973)
27. J.M. Schulman and M.D. Newton, J.Am.Chem.Soc. 96, 6295 (1974)
28. G. Binsch, J.B. Lambert, B.W. Roberts and J.D. Roberts, J.Am.Chem.Soc. 86, 5564 (1964)
29. R.E. Wasylishen and T. Schaefer, Can.J.Chem. 51, 3087 (1973)
30. J.M. Schulman and T. Venanzi, J.Am.Chem.Soc. 98, 6739 (1976)
31. J.B. Stothers, "Carbon-13 NMR Spectroscopy," in Organic Chemistry, Vol. 24, Academic Press, (1972)
32. H. Dreeskamp und E. Sackmann, Z.Phys.Chem. 34, 273 (1962)
33. H. Dreeskamp und G. Stegmeier, Z. Naturforsch. 22a, 1458 (1967)
34. A.W. Douglas and D. Diez, J.Chem.Phys. 46, 1214 (1967)
35. H. Dreeskamp, Z.Phys.Chem. 59, 321 (1968)
36. A.W. Douglas, J.Chem.Phys. 45, 3465 (1966)

37. D.M. Grant and W.M. Litchman, J.Am.Chem.Soc. 87, 3994 (1965)
38. D.H. Marr and J.B. Stothers, Can.J.Chem. 43, 596 (1965)
39. J.W. Faller, A.S. Anderson, and C.-C. Chen, Chem.Comm. 1966, 715
40. G.W. Buchanan, J.B. Stothers and S.-T. Wu, Can.J.Chem. 47, 3113 (1969)
41. A. W. Douglas, J.Chem.Phys. 40, 2413 (1964)
42. E.R. Malinowski, J.Am.Chem.Soc. 83, 4479 (1961)
43. K. Bock and C. Pedersen, Acta Chem. Scand. B31, 354 (1977)
44. Son Tran-Dinh, S. Femandjian, E. Sala, R. Mermet-Bouvier, M. Cohen, and P. Fromageot, J.Am.Chem.Soc. 96, 1484 (1974)
45. J.L. Marshall, L.G. Faehl, and R. Kattner, Org.Magn.Reson. 12, 163 (1974)
46. M. Pomerantz, R. Fink and G.A. Gray, J.Am.Chem.Soc. 98, 291 (1976)
47. H. Finkelmeier and W. Lüttke, J.Am.Chem.Soc. 100, 6261 (1978)
48. W.S. Lee and J.M. Schulman, J.Magn.Reson. 35, 451 (1979)
49. M. Karplus, J.Chem.Phys. 30, 11 (1959)
50. M. Karplus, J.Am.Chem.Soc. 85, 2870 (1963)
51. C. Altona and C.A.G. Haasnoot, Org. Magn. Reson. 13, 417 (1980)
52. K.G.R. Pachler, J.Magn.Reson. 8, 183 (1972), Tetrahedron 27, 187 (1971)
53. L.G. Vorontskova and A.F. Bochkov, Org.Magn.Reson. 6, 654 (1974)
54. K. Jankowski and A. Rabczenko, Org.Magn.Reson. 9, 480 (1977)
55. V.F. Bystrov, "Spin-Spin Coupling and Conformational States of Peptide Systems" in Progress in NMR-Spectroscopy, Vol. 10, Part 2, pp. 41-81, Pergamon Press (1976)
56. R.J. Abraham and J.M. Bakke, Org.Magn.Reson. 11, 373 (1978)
57. J.A. Pople and A.A. Bothner-By, J.Chem.Phys. 42, 1339 (1965)

58. G.E. Maciel, J.W. McIver, N.S. Ostlund and J.A. Pople, J.Am.Chem.Soc. 92, 4151 (1970)
59. A.M. White and G.A. Olah, J.Am.Chem.Soc. 91, 2943 (1969)
60. T. Yonezawa and I. Morishima, J.Mol.Spectrosc. 27, 210 (1968)
61. K. Bock and C. Pedersen, J.Chem.Soc.Perkin II, 1974, 293
62. K. Bock and C. Pedersen, Acta Chem.Scand. B 29, 258 (1975)
63. J.A. Ladd, J.Mol.Struct. 36, 329 (1977)
64. H. Egli, U.Vögeli, and W.von Philipsborn, Proceed, 11th Jerusalem Symposium on Quantum Chemistry and Biochemistry. B. Pullman Ed., NMR-Spectroscopy in Molecular Biology, Vol.11, p. 247 (1975)
65. K.G. R. Pachler and R. Pachter, Org.Magn.Reson. 12, 183 (1979)
66. P. Bigler, (Publikation geplant)
67. S. Gillet and J.J. Delpuech, J.Magn.Reson. 38, 433 (1980)
68. S.J. Opella, D.J. Nelson, and O. Jardetzky, J.Chem.Phys. 64, 2533 (1976)
69. A. Bax, R. Freeman, and S.P. Kempell, J.Am.Chem.Soc. 102, 4849 (1980)
70. K.G.R. Pachler and A.A. Chalmers, "Spin-Spin Coupling" in Specialist Periodical Report, Vol.8, p. 78, The Chemical Society (1979)
71. H.J. Bernstein, J.A. Pople and W.G. Schneider, Can.J. Chem. 35, 65 (1957)
72. R.J. Abraham and H.J. Bernstein, Can.J.Chem.39, 216 (1961)
73. R.L. Lichter and J.D. Roberts, J.Phys.Chem. 74, 912 (1970)
74. H.J. Jakobsen, A.J. Zozulin, P.D. Ellis and J.D. Odom, J.Magn.Reson. 38, 219 (1980)
75. P.K. Glasoe and F.A. Long, J.Phys.Chem. 64, 188 (1960)
76. E. Högfeldt and J. Bigeleisen, J.Am.Chem.Soc. 82, 15 (1960)
77. L.P. Hammett and A.J. Deyrup, J.Am.Soc. 54, 2721 (1932)
78. G.N. Lewis and P.W. Schutz, J.Am.Chem.Soc. 56, 1913 (1934)
79. C.K. Rule and V.K. La Mer, J.Am.Chem.Soc. 60, 1974 (1938)

80. S. Korman and V.K. La Mer, J.Am.Chem.Soc. 58, 1396 (1936)
81. J.J. Led and S.B. Petersen, J.Magn.Reson. 33, 603 (1979)
82. P. Krummbiegel, Isotopieeffekt, WTB Chemie, Akademie Verlag, Berlin (1970)
83. P. Sykes, Reaktionsaufklärung, Methoden und Kriterien der organischen Reaktionsmechanistik, S.46, Verlag Chemie-Physik (1972)
84. G. Gunnarsson, H. Wennerström, W. Egan and S. Forsén, Chem.Phys.Lett. 38, 96 (1976)
85. H. Batiz-Hernandez and R.A. Bernheim, in "Progress in NMR-Spectroscopy, Vol. 3, p. 63, eds. J.W. Emsley, J. Feeney, L.H. Sutcliffe, Pergamon Press (1967)
86. F.W. Wehrli, T. Wirthlin, Interpretation of Carbon-13 NMR Spectra, Heyden and Son Ltd. (1976)
87. J. Feeney, P. Partington, and G.C.K. Roberts, J.Magn. Reson. 13, 268 (1974)
88. A. Saika and H. Narumi, Can.J.Phys. 42, 1481 (1964)
89. P. Laszlo, Bull.Soc.Chim.Fr. 558 (1966)
90. H.J. Schneider and W. Freitag, J.Am.Chem.Soc. 98, 478 (1976)
91. Stability Constants, Special Publication No.17, London, The Chemical Soc. (1964)
92. R.E. London, T.E. Walker, V.H. Kollman, and N.A. Matwiyoff, J.Am.Chem.Soc. 100, 3723 (1978)
93. K. Wüthrich, NMR in Biological Research: Peptides and Proteins, p.39, North-Holland Publishing Company, Amsterdam-Oxford, (1976)
94. A.R. Quirt, J.R. Lyster Jr., I.R. Peat, J.S. Cohen, W.F. Reynolds, and M.H. Freedman, J.Am.Chem.Soc. 96, 570 (1974)
95. G. Jung, E. Breitmaier and W. Voelter, Eur.J.Biochem. 24, 438 (1971)
96. A. Aguiar, G.H. de Haas, E.H.J.M. Jansen, A.L. Altmann and R.J.P. Williams, Eur.J.Biochem. 100, 511 (1979)

97. R. Deslauriers, R. Walter, I.C.P. Smith, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 71, 265 (1974)
98. W.J. Horsley and H. Sternlicht, J. Am. Chem. Soc. 90, 3738 (1968)
99. C. Bliefert, pH-Wert-Berechnungen, Verlag Chemie (1978)
100. D.L. Rabenstein and T.L. Sayer, Anal. Chem. 48, 1141 (1976)
101. E. Breitmaier and W. Voelter, ¹³C NMR Spectroscopy, 2nd Edition, Verlag Chemie, Weinheim (1978)
102. J.L. Dye and V.A. Nicely, J. Chem. Educ. 48, 443 (1971)
103. R.E. London, J. Magn. Reson. 38, 173 (1980)
104. R. Deslauriers, Z. Grzonka, K. Schaumburg, T. Shiba, and R. Walter, J. Am. Chem. Soc. 97, 5093 (1975)
105. W. Haer, S. Femandjian, F. Robert, O. Lefebvre-Soubeyran, and S. Savrda, Tetrahedron 32, 2811 (1976)
106. J.Z. Siemion, Org. Magn. Reson. 8, 432, (1976)
107. D.B. Davies and Md. A. Khaled, J. Chem. Soc. Perkin II, 1976, 1238
108. R.B. von Dreele, Acta Crystallogr. B31, 966 (1975)
109. P. Groth, Acta Chem. Scand. 27, 3217 (1973)
110. J. Dale and K. Titlestad, Chem. Commun. 1970, 1403
111. Ch. M. Deber, E.T. Fossel, E.R. Blout, J. Am. Chem. Soc. 96, 4015 (1974)
112. P. Groth, Acta Chem. Scand. 23, 3155 (1969)
113. V. Prelog und H. Gerlach, Helv. 47, 2288 (1964)
114. M. Iseli, G. Wagnière, J.G. Brahms und S. Brahms, Helv. 62, 921 (1979)
115. R. Schwyzer, Chimia 12, 53 (1958)
116. R. Schwyzer, J.P. Carrion, B. Gorup, H. Nolting und A. Tun-Kyi, Helv. 47, 441 (1964)
117. R. Chandrasekaran, A.V. Lakshminarayanan, U.V. Pandya und G.N. Ramachandran, Biochem. Biophys. Acta 303, 14 (1973)

118. a: V. Madison, M. Atreyi, C.M. Deber, and E.R. Blout,
J.Am.Chem.Soc. 96, 6725 (1974)
b: C.M. Deber, D.A. Torchia, S.C.K. Wong, and E.R. Blout,
Proc.Nat.Acad.Sci. USA, 69, 1825 (1972)
119. K. Titlestad, Acta Chem.Scand. B29, 153 (1975)
120. R.M. Lynden-Bell and N.A. Sheppard, Proc.Roy.Soc.
Ser.A, 340, 345 (1974)
121. a: W. Lüttke, G. Becher, R. Machinek, J. Wardeiner
und R.B. Bergholz (private Mitteilung)
b: P. Diehl, H. Bösiger and J. Jokisaari, Org.Magn.
Reson. 12, 282 (1979)
122. V.J. Bartuska and G.E. Maciel, J.Magn.Reson. 5, 211
(1971)
123. F.J. Weigert and J.D. Roberts, J.Am.Chem.Soc. 94,
6021 (1972)
124. W.M. Litchman and D.M. Grant, J.Am.Chem.Soc. 89,
6775 (1967)
125. V.J. Bartuska and G.E. Maciel, J.Magn.Reson. 7,
36 (1972)
126. A.M. Ihrig and J.L. Marshall, J.Am.Chem.Soc. 94,
1756 (1972)
127. G.A. Gray, F.D. Ellis, C.O. Tranciente and G.E. Maciel,
J.Magn.Reson. 1, 41 (1969)
128. G.W. Smith, J.Chem.Phys. 39, 2031 (1963)
129. R. Gretler, E. Askitoğlu, H. Kühne und M. Hesse, Helv.
61, 1730 (1978)
130. B. Elamin, G.M. Anantharamaiah, G.P. Royer and
G.E. Means, J.Org.Chem. 44, 3442 (1979)
131. A. De Marco, J.Magn.Reson. 26, 527 (1977)

Lebenslauf

Am 31. Januar 1948 wurde ich, Huldrych Egli, in Zürich als Bürger von Fischenthal ZH geboren. Von 1955 bis 1965 besuchte ich in Zürich und St. Peterzell (SG) die Primar- und Sekundarschule. 1965 trat ich in Zürich in die Kantonale Handelsschule Freudenberg ein, welche ich im Herbst 1969 mit der Kantonalen Handelsmaturität verliess. Anschliessend immatrikulierte ich mich an der Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich für das Chemiestudium. Im SS 1976 legte ich die Diplomprüfung in organischer Chemie ab und begann anschliessend unter Leitung von Prof. W. von Philipsborn mit der vorliegenden Arbeit.

Von 1974 bis 1980 unterrichtete ich an verschiedenen Zürcher Gymnasien als Lehrbeauftragter für Chemie. Parallel dazu absolvierte ich die Ausbildung als Mittelschullehrer im Fach Chemie, welche ich im WS 1979/80 mit der Prüfung für das höhere Lehramt abschloss. Seit 1977 bin ich als Assistent am Organisch-chemischen Institut angestellt.

Während meiner Ausbildung besuchte ich Vorlesungen und Kurse bei folgenden Dozenten:

P.S. Chen, A. Dreiding, C.H. Eugster, H. Fischer, R. Grauer, E. Hadorn, H.J. Hediger, W. Heinzelmann, M. Hesse, H. Keller, H. Labhart, W. Ludwig, V. Meyer, H. Oswald, W. von Philipsborn, H. Schmid, M. Viscontini, B. van der Waerden, G. Wagnière, F. Waldner, H. Werner und O. Woodtli.

